



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

AVALIAÇÃO DO PH RUMINAL DE VACAS LEITEIRAS EM PORTUGAL -
RELAÇÃO COM PARÂMETROS AMBIENTAIS, PRODUTIVOS E
FISIOLÓGICOS

BRUNO EMANUEL SOARES MOREIRA

CONSTITUIÇÃO DO JURÍ

Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima

Doutor Rui José Branquinho de Bessa

Doutor George Thomas Stilwell

ORIENTADOR

Dr. Marc Piera

CO-ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2015
LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

AVALIAÇÃO DO PH RUMINAL DE VACAS LEITEIRAS EM PORTUGAL -
RELAÇÃO COM PARÂMETROS AMBIENTAIS, PRODUTIVOS E
FISIOLÓGICOS

BRUNO EMANUEL SOARES MOREIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JURÍ

Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima

Doutor Rui José Branquinho de Bessa

Doutor George Thomas Stilwell

ORIENTADOR

Dr. Marc Piera

CO-ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2015
LISBOA

“O passado é história, o futuro é mistério, o agora é uma dádiva!

Por isso se chama presente”

Provérbio chinês

“Longa viagem começa com um único passo”

Lao-Tsé

Agradecimentos

Ao Professor Doutor George Stilwell, a quem admiro desde sempre, por todo o conhecimento partilhado, pelo tempo e dedicação despendido na orientação e realização deste trabalho e por me ter suscitado, desde muito cedo, o desejo de me tornar “Veterinário de vacas”.

Ao Professor Doutor Rui Bessa, por toda a disponibilidade, amabilidade, cortesia e paciência com que me recebeu no momento da análise estatística dos dados da presente dissertação e por todos os conselhos e conhecimentos transmitidos ao longo do curso.

Ao Professor Doutor Ricardo Bexiga, excelente pessoa e profissional, por quem tenho muita estima, amizade e respeito, por todos os conselhos, conhecimentos, dedicação e disposição com que me recebeu.

Ao Professor Doutor Miguel Saraiva Lima, por todos os ensinamentos, entusiasmo, ajuda incondicional e boa disposição com que sempre me recebeu no seu gabinete.

A todos os produtores que permitiram a recolha de dados nas suas explorações para a realização deste trabalho, pela confiança depositada e troca de ideias e conhecimentos.

À Serbuvet pelo apoio, incentivo e amizade em todo este percurso de realização do presente trabalho e ainda pela oportunidade e confiança que depositaram em mim. É extremamente satisfatório e gratificante trabalhar com uma equipa deste gabarito!

Ao Centre Veterinari de Tona, em especial ao Joaquim Baucells, Pep Torrallardona e Marc Piera (meu orientador), por quem tenho bastante apreço. Obrigado pela disponibilidade em me receberem para estágio curricular e pelo conhecimento transmitido, apoio e amizade.

À Catarina Cortes, Rita Serrenho e Uriel Mateus que, além de serem pessoas pelas quais tenho apreço e amizade, ajudaram na recolha dos dados.

Ao meu pai e à minha mãe, por serem as pessoas que mais admiro e por quem nutro um imenso carinho, respeito, afecto, estima e orgulho. Também por ao longo destes 26 anos me terem proporcionado a melhor vida; por me terem instruído; pelos valores morais, sacrifício, dedicação, amor e carinho; por terem incutido em mim o valor do trabalho; por estarem presentes nos momentos mais difíceis e ainda por manterem o porto de abrigo à disposição.

Aos meus irmãos por quem, apesar de todas as discussões “construtivas” e desacatos “ordeiros”, tenho um imenso carinho, admiração, apreço, respeito e orgulho. São duas “personagens” que muito contribuíram para o que sou hoje.

Aos meus avós pelos ensinamentos morais, éticos, religiosos e de perseverança e ainda, pela alegria, bondade, gosto pela vida, amor, carinho, orgulho e dedicação que têm. São exemplos a seguir!

Aos meus tios e primos, em especial aos meus padrinhos e, aos meus tios Tó Zé e Lola, que sempre me ajudaram e apoiaram.

Ao meu incontornável amicíssimo Bernardo pelas extensas conversas, pelo contubérnio, permuta de pareceres, sentido de humor, valores morais, determinismo e força de encarar a vida para vencer. És um “artista”!

Ao meu grande amigo Costinha pela amizade, companheirismo e força dada ao longo destes anos.

À Ana Rita Moreira, Marisa Vicente, Sarah Féré e Sofia Saraiva por serem quem são, pela verdadeira e incondicional amizade ao longo destes anos, pelo companheirismo e bons momentos de convívio e trabalho!

À equipa de futsal e a todos os amigos em geral que contribuíram para a conclusão desta etapa.

À Sandra Filipa Ferreira, por quem nutro bastante orgulho, consideração e carinho, por ter contribuído na modelação da pessoa que hoje sou e pela força dada nos momentos mais difíceis, o que permitiu continuar. Além de grande amiga, foi também uma grande companheira ao longo destes anos.

Resumo

Este trabalho visou avaliar a prevalência de acidose ruminal subaguda (ARSA) em explorações de vacas leiteiras em Portugal através da análise dos valores de pH do líquido ruminal e posterior relação com os resultados do *Penn State Particle Separator* (PSPS), qualidade do leite, beta-hidroxibutirato (β HB) no leite, dados produtivos individuais, práticas de manejo alimentar e temperatura ambiente fora e dentro do estábulo. Para colheita do fluido ruminal foi utilizada uma sonda ruminal, e o pH ruminal foi medido através de um aparelho portátil (*lacta pmer*) previamente validado. De modo avaliar a granulometria da partícula da dieta recorreu-se ao PSPS. Realizou-se ainda no mesmo momento, a colheita de leite para análise semiquantitativa dos valores de β HB através de tiras Ketotest® (Elanco). Os dados da qualidade de leite foram obtidos através do contraste leiteiro realizado nas explorações. Para a análise seleccionaram-se aleatoriamente em média 13 vacas de 14 explorações com 100 a 1000 animais em produção. Em quatro destas explorações tinham sido colocados bolos intra-ruminais de monensina (Kexxtone®, Elanco) nos animais incluídos no ensaio. No total foram amostrados 185 animais, com 5 a 100 dias em leite. Os animais do estudo estavam a ser alimentados com dieta completa com rácios variados de forragem/concentrado. Em todas as explorações foi medida a temperatura ambiente e das forragens. O pH ruminal médio foi de 6,24, com 28% das explorações a apresentarem animais positivos a ARSA com uma prevalência média de 19%. Encontrou-se uma relação positiva entre a PSPS19 e os valores de pH ruminal ($p < 0,02$). Curiosamente, verificou-se uma tendência positiva entre a quantidade de alimento retido no crivo de granulometria $\geq 1,18$ mm e a produção de leite ($p = 0,051$). Verificou-se ainda uma relação negativa entre o pH ruminal e a temperatura ambiente dentro dos pavilhões ($p = 0,023$) e uma relação positiva entre a prevalência de ARSA e a amplitude de pH ruminal encontrada em cada exploração ($p = 0,003$). Identificou-se uma relação negativa entre o somatório da quantidade de alimento composto complementar e silagem de milho e os valores médios de pH ruminal. As vacas múltiparas apresentaram tendência para teores de gordura no leite mais elevados do que as primíparas ($p = 0,05$). A prevalência média de vacas com cetose subclínica (CSC) por exploração foi de 51%. Não houve diferença estatisticamente significativa entre a paridade e a probabilidade das vacas apresentarem CSC ($p = 0,227$). Além disso, constatou-se que, quanto maior é a produção de leite, maior é o risco das vacas terem CSC ($p < 0,01$). O uso integrado destas metodologias possibilita uma abordagem mais objectiva no controlo e monitorização da alimentação, do estado hídrico e bem-estar da vaca leiteira. Contudo, mais estudos terão de ser realizados para melhor compreensão da relação entre algumas variáveis.

Palavras-chave: sonda ruminal, pH ruminal, acidose ruminal subaguda, *penn state particle separator*, cetose subclínica e vacas leiteiras.

Abstract

This study aimed to assess the prevalence of sub-acute ruminal acidosis (SARA) in Portuguese dairy farms by analyzing the pH of the rumen fluid and subsequent relationship with the results of the Penn State Particle Separator (PSPS), milk quality, beta hydroxybutyrate (β HB) in milk, individual production data, feed management practices and environmental temperature outside and inside the barn. To harvest the ruminal fluid a rumen probe was used, and rumen pH was measured using a portable device (Lacqua pmer) previously validated. The PSPS was used to evaluate the dietary fiber length. Additionally milk was collected for semi quantitative assessment of β HBI through Ketotest® strips (Elanco). The milk quality data was obtained from routine milk recordings performed at the farms. For the study an average of 13 cows were randomly selected from each of 14 farms with 100 to 1000 animals in milk. In four of these farms intra-ruminal monensin device (Kexxtone®, Elanco) had been applied to the animals included in the trial. A total of 185 animals were sampled, with 5 to 100 days in milk. The study animals were eating a total mixed ration (TMR) with varying ratios of forage/concentrate. In all farms the temperature inside and outside of barns was measured. The ruminal pH average was 6.24, with 28% of the farms being positive to ARSA, with an average prevalence of 19%. We found a positive and statistically significant correlation between the amount of fiber sieve with a particle size ≥ 19 mm and pH values ($p < 0.02$). Interestingly, there was a positive relationship between the amount of food held in the particle size of ≥ 1.18 mm sieve and milk production ($p = 0.051$). There was a negative relationship between rumen pH and environmental temperature inside the pavilions ($p = 0.023$). A positive correlation between the prevalence of SARA and amplitude ruminal pH found in each scan ($p = 0.003$) and a negative relationship between the sum of the amount of concentrate and corn silage and the average values of rumen pH, were also found. Multiparous cows tended to have higher milk fat values compared with primiparous cows ($p = 0.05$). The average prevalence of sub-clinical ketosis (SCK) per farm was 51%. There was no statistically significant difference between the parity and the likelihood for SCK ($p = 0.227$). Furthermore, it was found that higher milk production was a risk factor for cows having SCK ($p < 0.01$). The integrated use of these methods allows for a more objective approach to the control and monitoring of feeding, health status and welfare of the dairy cow. However, more studies need to be conducted to better understand the relationship between some variables.

Keywords: ruminal probe, ruminal pH, sub-acute ruminal acidosis, penn state particle separator, sub-clinical ketosis and dairy cows.

Índice

Resumo	iii
Abstract	iv
Índice	v
Índice de Figuras	viii
Índice de Gráficos	viii
Índice de Tabelas	viii
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	ix
1. Introdução.....	11
2. Objectivos	4
3. Relatório de estágio	5
3.1. Duração e descrição do local de estágio	5
3.2. Descrição das actividades desenvolvidas.....	5
4. Estudo científico	6
5. Revisão bibliográfica.....	7
5.1. Rotina diária da vaca.....	7
5.2. Fisiologia ruminal	7
5.3. Produção de saliva e ruminação	9
5.4. Função do rúmen	10
5.5. Microbiologia ruminal.....	11
5.6. Período de transição - Nutrição	12
5.7. Avaliação nutricional e doenças subclínicas.....	15
5.7.1. <i>Penn State Particle Separator</i>	15
5.7.2. Constituintes do leite e a sua importância.....	17
5.7.2.1. Gordura	19
5.7.2.1.1. Alteração do teor butiroso no leite.....	19
5.7.2.1.2. Síndrome de depressão do teor de gordura no leite	20
5.7.2.2. Proteína.....	21
5.7.2.3. Relação proteína gordura	22
5.7.2.4. Ureia.....	22
5.7.3. Outras avaliações	23
5.7.3.1. Avaliação da temperatura ambiente dentro e fora dos estábulos.....	23

5.7.3.2. Avaliação da temperatura dos alimentos.....	25
5.7.4. Doenças da produção.....	27
5.7.4.1. Fígado gordo.....	27
5.7.4.2. Cetose.....	28
5.7.4.3. Cetose subclínica.....	29
5.7.4.3.1. Impacto económico.....	29
5.7.4.3.2. Consequências.....	29
5.7.4.3.3. Epidemiologia.....	30
5.7.4.3.4. Método de diagnóstico.....	30
5.7.4.3.5. Prevenção/Tratamento.....	30
5.7.4.4. Acidose ruminal subaguda.....	31
5.7.4.4.1. Impacto económico.....	32
5.7.4.4.2. Etiologia e Fisiopatologia.....	32
5.7.4.4.3. Consequências.....	36
5.7.4.4.4. Epidemiologia.....	39
5.7.4.4.6. Prevenção.....	44
6. Estudo experimental.....	45
6.1. Objectivo do estudo.....	45
6.2. Materiais e métodos.....	45
6.2.1. Caracterização do local.....	45
6.2.2. Amostragem e desenho experimental.....	46
6.2.3. Métodos.....	47
6.2.3.1. Avaliação do pH ruminal.....	47
6.2.3.2. <i>Penn State Particle Separator</i>	49
.....	50
6.2.3.3. Qualidade do leite.....	50
6.2.3.4. Detecção β -hidroxibutirato no leite, através de tiras de <i>ketotest</i> ®.....	50
6.2.3.5. Dados produtivos de cada animal sujeito ao estudo.....	51
6.2.3.6. Avaliação da temperatura dos alimentos e do ambiente (dentro e fora dos estábulos).....	51

6.2.3.7. Registo, tratamento de dados e análise estatística.....	51
7. Resultados.....	54
8. Discussão	64
8.1. Algumas limitações do estudo	76
9. Conclusão.....	77
10. Referências bibliográficas	79
11. Anexo	92
Anexo A	92

Índice de Figuras

Figura 1 - Sistema digestivo da vaca e respectiva capacidade.	8
Figura 2 - Camadas do rúmen.	12
Figura 3 - Ilustração sobre a forma de como conservar a massa de cerveja.....	27
Figura 4 – <i>Penn State Particle Separator</i> de quatro caixas; as diferentes dimensões dos crivos.	49
Figura 5 - Demonstração esquemática do número e modo de movimentos a realizar, após colocação do alimento no topo do PSPS.	50
Figura 6 – Tiras de detecção de β -hidroxibutirato no leite.....	50
Figura 7 – Medição da temperatura de um silo de massa de cerveja.....	51

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Evolução da produção de leite a nível mundial.....	2
Gráfico 2 – Perspectiva de evolução do preço do leite até 2023.....	3
Gráfico 3 - Fermentação ruminal de acordo com o pH ruminal.	11
Gráfico 4 - Fases da fermentação normal do silo de milho.....	26
Gráfico 5 - Variação do pH ruminal com a temperatura ambiente dentro do estábulo nas diferentes explorações.....	59

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Actividades diárias da vaca e tempo despendido em cada actividade.	7
Tabela 2 - Composição química da saliva da vaca.	10
Tabela 3 - Composição química dos principais gases do rúmen.....	10
Tabela 4 - Descrição da granulometria dos vários crivos do PSPS e os respectivos alimentos que podem ser analisados, com os respectivos valores padrão.	15
Tabela 5 - Composição base do leite de vaca.....	18
Tabela 6 - Correlação entre os teores de proteína e a MUN e o respectivo significado. ...	23
Tabela 7 - Valores de THI e os respectivos graus de <i>stress</i> térmico.....	24
Tabela 8- Alterações relativas nas necessidades de manutenção e de IMS quando a temperatura aumenta e os resultados na IMS real e produção.	24
Figura 9– Medidor de pH portátil.....	47
Figura 10 – Sonda esofágico-ruminal e os principais componentes.....	48
Figura 11 – Fases da colheita e análise o pH do líquido ruminal.	49

Tabela 12 - Resultados do PSPS da silagem de erva nas diferentes explorações e os respectivos valores de referência.....	54
Tabela 13 - Resultados do PSPS da silagem de milho nas diferentes explorações e os respectivos valores de referência.....	55
Tabela 14 - Resultados do PSPS da TMR nas diferentes explorações e os respectivos valores de referência e quantidades de alimentos com capacidade acidogénica na dieta.	55
Tabela 15 - Temperatura do ambiente (dentro e fora dos estábulos), dos alimentos, bem como, valores mínimos, médios e máximos de cada ponto avaliado e ainda amplitude térmica.....	56
Tabela 16 - Resultados das medições do pH ruminal expressando os valores mínimos, médios e máximos, bem como, a prevalência de ARSA em cada exploração e a respectiva interpretação face ao resultado.....	57
Tabela 17 - Relação entre o pH ruminal e a estanquicidade da sonda aquando da retirada do rúmen.	59
Tabela 18 – Prevalência de CSC por exploração.....	60
Tabela 19 - Relação entre a paridade das vacas e o teor butiroso do leite.	61
Tabela 20 - Diferença no teor butiroso entre vacas que possuem um bolo intra-ruminal de monensina e as vacas que não possuem.	61
Tabela 21 - Teor butiroso e proteico do leite, bem como de ureia, contagem de células somáticas, litros vaca dia e dias em leite.	62

Lista de Abreviaturas e Símbolos

ppm - partes por milhão

ARSA - Acidose Ruminal Subaguda

AA - Aminoácidos

ACC – Alimento composto complementar

AGNE - Ácidos Gordos Não Esterificados

AGV - Ácidos Gordos Voláteis

ApH – amplitude de pH ruminal (pH máximo – pH mínimo)

BEN - Balanço Energético Negativo

β HB - Beta-Hidroxibutirato

β HBI - β HB no leite através de tiras ketotest®

bottom - percentagem de partículas com granulometria $< 1,18\text{mm}$

CC - Condição Corporal

CCS - Contagem de Células Somáticas

CSC - Cetose Subclínica

CSCI - cetose subclínica quando teor de β HBI $\geq 100 \text{ mmol/l}$

C_{Sm} – soma do alimento composto complementar e silagem de milho (kg MS)

CVT - *Centre Veterinari de Tona S.L*

DA - Deslocamento do Abomaso

DAACC - Distribuidores Automáticos de Alimento Composto Complementar

DCAD - diferença dietética catião-anião

DEL - Dias Em Leite

ESR - estanquicidade da sonda ruminal

FDN - Fibra Detergente Neutra

HCFF - Hidratos de carbono facilmente fermentescíveis

Hp - haptoglobolina

IMS - Ingestão de Matéria Seca

LPS – lipopolissacarídeo

Camada de tapete do rúmen - *mat layer* do rúmen

MS - Matéria Seca

MUN – Azoto ureico no Leite

Parsa – prevalência de acidose ruminal subaguda nas explorações

peFDN - fibra fisicamente efectiva

PB - Proteína Bruta

pH_m – pH ruminal médio da exploração

pH_{max} – pH ruminal máximo da exploração

pHmin – pH ruminal mínimo da exploração

PL – Produção de leite diária

PSPS - Penn State Particle Separator

PSPS1,18 – percentagem de partículas com granulometria $\geq 1,18$ e $< 8\text{mm}$;

PSPS8 – percentagem de partículas com granulometria $\geq 8\text{mm}$ e $< 19\text{mm}$

PSPS19 - percentagem de partículas com granulometria $\geq 19\text{mm}$

PSPSt1,18 – percentagem de partícula com granulometria $\geq 1,18\text{mm}$

PSPSt8 – percentagem de partícula com granulometria $\geq 8\text{mm}$

Qtf - quantidade de fluido ruminal recolhido

TB - Teor Butiroso do leite

Text – temperatura externa dos pavilhões

Tint – temperatura interna dos pavilhões

THI - *Temperature Humidity Index*

TMR - *Total Mixed Ration*

TP - Teor Proteico do leite

Tdreche – temperatura da massa de cerveja

Tse – temperatura da silagem de erva

Tsm – temperatura da silagem de milho

TU – Teor ureico no Leite

RPG - rácio do TP e TB

SAS - *Statistical Analysis Software*

SDG - Síndrome de Depressão do teor de Gordura do leite

SAA - amilóide sérica A

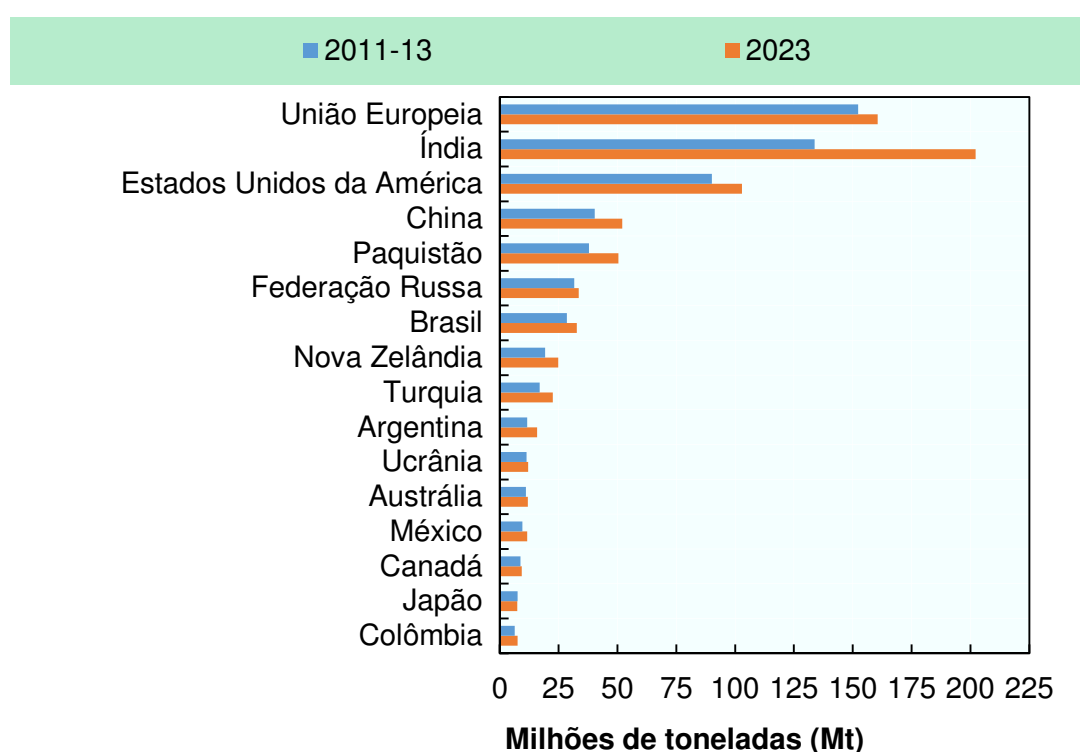
VLDL - *Very Low Density Lipoproteins*

Misturadores – Máquina rebocável ou automotriz que mistura e distribui a dieta completa

1. Introdução

A produção mundial de leite tem aumentado substancialmente (Wolf, 2003; VandeHaar & St-Pierre, 2006), sendo que nas últimas três décadas, a quantidade de leite produzido aumentou mais de 50%, isto é, entre 1982 e 2012 houve um incremento de 482 para 754 milhões de toneladas de leite (FAO, 2015). Dados da (FAO, 2013) perspectivam uma produção de 928 milhões de toneladas de leite para 2023 (Gráfico 1), passando para o topo dos produtores a Índia, seguida da União Europeia (actualmente o maior produtor de leite do mundo) e dos Estados Unidos.

Gráfico 1 - Evolução da produção de leite a nível mundial. Adaptado de FAO, (2013)



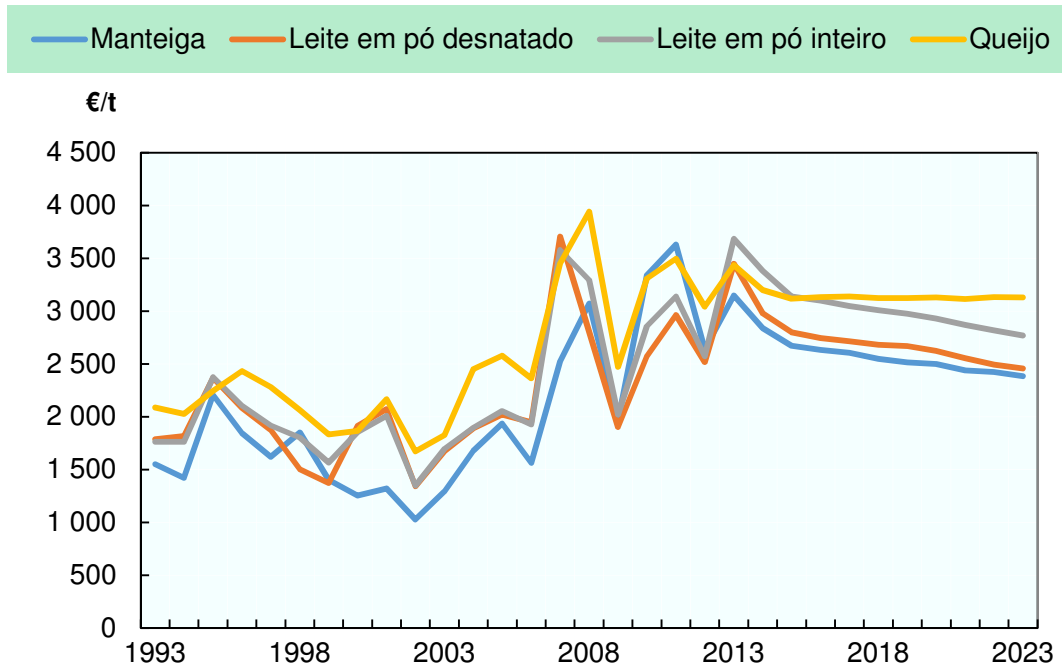
Portugal encontra-se na 15ª posição do *ranking* dos países que mais leite produzem na união europeia, com uma produção média anual de 1 898 430,00 toneladas, resultante de 237 mil vacas leiteiras (INE, 2013). Depreende-se assim que a média nacional é de aproximadamente 8.000 litros/vaca/ano. Em termos de autossuficiência em leite cru, Portugal apresenta valores na ordem dos 106,9% (INE, 2013).

O aumento da produção de leite deve-se muito às melhorias a nível de manejo (reprodutivo, sanitário, epidemiológico), da genética, do ambiente e dos cuidados médico veterinários mas também aos avanços no conhecimento técnico do metabolismo animal (LeBlanc, Lissemore, Kelton, Duffield, & Leslie, 2006; Drackley, Donkin, & Reynolds, 2006; VandeHaar & St-Pierre, 2006) e na formulação/mecanização (Eastridge, 2006) da alimentação (e.g. *softwares* de arrazoamentos e misturadores).

Em Portugal a bovinicultura leiteira apresenta actualmente algumas dificuldades, nomeadamente, no que diz respeito aos custos de produção, e mais em concreto aos das matérias-primas, que no ano de 2013 tiveram um aumento de 6,8% (INE, 2013). Por outro lado, de acordo com dados da FAO (2013), o preço do leite, mantém uma previsão de descida até 2023 (Gráfico 2), o que potencia ainda mais o impacto da subida dos preços das matérias-primas. De acordo com os dados do Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral (GPP) em Fevereiro de 2015, a nível nacional, o preço por litro de leite pago ao produtor situava-se nos 0,316 €, um pouco abaixo da média europeia (0,324 €) (GPP, 2015).

Perante esta perspectiva, a dimensão da exploração e os custos de produção tendem a ter cada vez mais peso na rentabilidade do negócio da bovinicultura leiteira (Wolf, 2003). Desta forma, as explorações de maiores dimensões e com custos de produção mais baixos, ou seja, as mais eficientes e produtivas apresentam uma vantagem competitiva em relação às outras explorações, mais pequenas e com custos de produção mais elevados.

Gráfico 2 – Perspectiva de evolução do preço do leite até 2023. Adaptado de FAO, (2013).



De forma a combater todas estas vicissitudes, ter-se-á de incidir de forma bastante vincada no conceito da medicina da produção (Fuhrman, 1993; LeBlanc *et al.*, 2006). Este conceito implica a conjugação e monitorização de vários factores nomeadamente, intervenção proactiva na prevenção de doenças, problemas reprodutivos e produtivos, na gestão da compra de matérias-primas e seus *stocks*, na gestão e formação dos trabalhadores, na optimização do manejo, na alimentação e nutrição animal (VandeHaar & St-Pierre, 2006),

no controlo do stress térmico, entre outros (LeBlanc *et al.*, 2006). Tudo isto de modo a garantir a saúde e bem-estar animal e consequentemente a maximização e redução dos custos de produção (Fuhrman, 1993; Kelton, Lissemore, & Martin, 1998). Assim e de acordo com vários autores, as doenças subclínicas são uma das maiores causas de perdas económicas na exploração. Dado que, na maioria das vezes estão na origem de diversos problemas clínicos e produtivos, como é o caso do deslocamento do abomaso (DA), das metrites, da retenção da placenta, da cetose clínica, das endometrites, dos anestros, das mastites clínicas, das laminites, de diarreias, da quebra na ingestão de matéria seca (IMS), da baixa produção, das oscilações no teor butíroso do leite (TB), entre outras, e ainda de forma mais ou menos directa, no aumento da taxa de refugos precoces, (LeBlanc, 2010; Enemark, 2008; Mulligan, O'Grady, Rice, & Doherty, 2006). Entre as doenças subclínicas com maior impacto na produção e rentabilidade da exploração destacam-se, as mamites, a acidose ruminal, a cetose e a hipocalcémia (Oetzel, 2004; Mulligan *et al.*, 2006; Enemark, 2008; LeBlanc *et al.*, 2006). Portanto, conseguindo monitorizar e controlar este tipo de doenças estaremos a dar um passo colossal para a garantia da saúde, rentabilidade e produtividade da exploração (Fuhrman, 1993; González, Tolkamp, Coffey, Ferret, & Kyriazakis, 2008). Sabendo que estes processos patológicos são mais comuns no início (período de transição) e pico de lactação (maior balanço energético negativo e IMS), devemos incidir de forma mais marcante nestas fases (LeBlanc, 2010; LeBlanc *et al.*, 2006; Oetzel, 2004; Mulligan *et al.*, 2006; Oetzel, 2010).

De modo a monitorizarmos estas doenças com objectividade, podemos recorrer a um conjunto de metodologias para controlarmos e resolvermos alguns problemas relacionados com os processos patológicos em questão. Por exemplo, a conjugação da colheita de fluido ruminal e sua avaliação, análise do tamanho de partícula recorrendo ao *Penn State Particle Separator* (PSPS) e avaliação da temperatura ambiente e dos alimentos são ferramentas que, em conjunto, podem ajudar na monitorização da acidose ruminal subaguda (ARSA). Já para a cetose subclínica (CSC), a análise de sangue, leite ou urina permite-nos fazer a sua monitorização e controlo (Oetzel, 2003a; Mulligan *et al.*, 2006; Oetzel, 2010).

Assim, depreende-se que uma atitude proactiva e preventiva, suportada numa metodologia prática, objectiva e imediata, e assente no conceito da medicina da produção, permite ajudar a prevenir, a solucionar e dar respostas imediatas, à maioria dos problemas que podemos encontrar numa exploração. Contribuindo desta forma para a saúde económica, e para a vitalidade e bem-estar da exploração e dos seus animais (Fuhrman, 1993; Oetzel, 2003a; Oetzel, 2010).

2. Objectivos

Avaliar o grau de acidose ruminal subaguda presente nas explorações através da análise dos valores de pH do líquido ruminal de vacas leiteiras em produção. Relacionar o pH ruminal resultante da análise de líquido ruminal com os resultados do PSPS, qualidade do leite, beta-hidroxibutirato (β HB) no leite, dados produtivos de cada animal, práticas de manejo alimentar e bem como a temperatura dos alimentos e do ambiente.

Além disto, foi objectivo deste estudo desenvolver metodologias e esquemas de trabalho que permitissem fazer uma avaliação concisa e um aconselhamento ao nível do manejo alimentar que se pratica na exploração. Por último, procurar complementar e validar as metodologias desenvolvidas (ou aplicadas) em trabalhos semelhantes, nomeadamente, por Geishauser, Linhart, Neidl, & Reimann, (2012).

3. Relatório de estágio

3.1. Duração e descrição do local de estágio

O estágio curricular decorreu entre 15 de Outubro de 2013 e 15 de Fevereiro de 2014. Este foi realizado no Centre Veterinari de Tona S.L (CVT), onde tive a oportunidade de acompanhar e colaborar em todas as actividades ligadas à área da nutrição e gestão de explorações de bovinos de leite, baseado no conceito de medicina da produção. O CVT tem sede em Antoni Figueres, Seva-Taradell-Tona, Barcelona. A área de intervenção foi unicamente em explorações intensivas de bovinos de leite, que se situavam por toda a Espanha e inclusive em Portugal. O CVT tinha ao seu encargo aproximadamente 50.000 animais. Durante este estágio acompanhei o Dr. Joaquim Baucells, Dr. Josep Torrallardona e Dr. Marc Piera, nas visitas de gestão e nutrição às explorações. Pontualmente acompanhei o Dr. Toni Mas do CVT, em visitas de reprodução, clínica e sanidade bovina. Aos Sábados estava inserido numa das explorações abrangidas pelo CVT, em que acompanhava o Dr. Vincent Robles em todas as actividades (reprodução, clínica, manejo, cirurgia e podologia), esta exploração tinha aproximadamente 850 bovinos leiteiros em ordenha. Esporadicamente, acompanhei o Dr. Demetrio Herrera (Qllet) em visitas de qualidade de leite.

3.2. Descrição das actividades desenvolvidas

Durante o estágio e mais especificamente na área da nutrição e gestão, as actividades realizadas incidiram principalmente na análise da folha RX (folha Excel com aproximadamente 120 índices produtivos, desenvolvida pelo CVT), análise económica,

elaboração de várias fórmulas alimentares e acompanhamento da mudança das mesmas e análise e avaliação dos parâmetros no *Farm link®* (*software* que permite monitorizar a elaboração do *Total Mixed Ration* - TMR). Além disso, colaborei no desenvolvimento de vários protocolos nomeadamente, de reprodução, de desmame, de manejo, de vacinação, de pré e pós-parto. Trabalhei com ferramentas que avaliavam a *performance* dos trabalhadores em pontos cruciais da exploração (alimentação, reprodução e ordenha). Participei ainda na avaliação e controlo do livro de registo dos medicamentos, incidência de doenças, avaliação de protocolos de colostro, realização de inventários, avaliação da fertilidade, análise da IMS, análise de rácios produtivos, análise da taxa de detecção de cios, análise dos preços de matérias-primas e do preço do leite pago ao produtor. A nível clínico participei em cirurgias de DA, tratamento de doenças (e.g. mastites, cetoses, pneumonias) e ainda correção e tratamento de úngulas. No que competiu ao manejo reprodutivo, realizei inseminações e executei protocolos de sincronização. Neste estágio tive a oportunidade de acompanhar um centro de recria (Recria XXI) com 2 000 novilhas e avaliar e monitorizar todos os índices reprodutivos, produtivos e de sanidade.

Além das actividades acima referidas participei ainda na avaliação do impacto de micotoxinas na alimentação, avaliação e análise dos protocolos de quarentena, avaliação do encolostramento, controlo de parâmetros relacionados com a qualidade do leite no projecto “*Ato Natura*” (leite com Ómega-3). Acompanhamento das visitas de monitorização do alimento Nutex (suplemento para a produção de leite com Ómega-3) projecto a cargo da empresa Ato natura. Análise da problemática de odores no leite e possível correlação com a alimentação. Entretanto e no seguimento do estágio acompanhava visitas de produtores estrangeiros a explorações abrangidas pelo CVT. Assisti e acompanhei obras para expansão de explorações. No que diz respeito à qualidade de leite, participei na análise de dados de qualidade de leite, avaliação do funcionamento dos pulsadores, avaliação do funcionamento da bomba de vácuo, avaliação de índices, avaliação de protocolos de pré-dip e pós-dip e avaliação de protocolos de tratamento.

4. Estudo científico

Após o estágio, entre Agosto e Outubro de 2014 iniciei e finalizei a colheita de amostras para a dissertação de mestrado. Durante este período, familiarizei-me com técnicas de contenção de bovinos, colheita de líquido ruminal com sonda esofágico-ruminal, bem como, análise do pH ruminal. Além disso, em todas as explorações envolvidas procedi à realização de um PSPS que visava avaliação do tamanho da partícula dos alimentos. Este ponto, juntamente com a análise de vários tipos de matérias-primas (conservação) e

formulações alimentares, permitiu desenvolver competências na área da nutrição. Monitorizei as temperaturas ambientais e dos alimentos e por último avalei com tiras de β HB em leite, a presença ou não de CSC.

5. Revisão bibliográfica

5.1. Rotina diária da vaca

De modo a enquadrar toda a revisão bibliográfica que se segue, o conhecimento da rotina diária da vaca é um ponto fulcral quer no relacionamento com as doenças da produção quer com todo o maneio a nível alimentar e de grupo. Assim como se pode observar na Tabela 1, a vaca necessita de determinado tempo para a realização de cada actividade, caso contrário podemos estar a ter perdas produtivas e de bem-estar animal (Grant & Miner, 2004). Convém realçar que algumas destas actividades se podem sobrepor (e.g. repouso e ruminar).

Tabela 1 - Actividades diárias da vaca e tempo despendido em cada actividade. Adaptado de Krawczel & Grant, (2009) citando Grant, (2007)

Actividade	Tempo despendido em cada actividade
Alimentação	3 a 5 h (9 a 14 refeições/dia)
Repouso (Deitadas)	12 a 14 h
Interações sociais	2 a 3 h
Ruminar	7 a 10 h
Beber	30 min
Actividades de maneio (e.g. ordenha; inseminações)	2,5 a 3,5 h

5.2. Fisiologia ruminal

Os ruminantes têm um sistema digestivo complexo (Figura 1), constituído por quatro compartimentos gástricos, retículo, rúmen, omaso e abomaso (Constable, Hoffsis, Rings, 1990a; Parish, 2011), que interagem de modo a facilitar a actuação de enzimas de origem bacteriana e endógena sobre os alimentos, e desta forma transforma-los em nutrientes passíveis de serem metabolizados pelo animal (Thomas, 2009; Sejrsen, Hvelplund, & Nielsen, 2008; Nocek & Tamminga, 1991). Estes compartimentos gástricos tornam o ruminante mais eficiente na digestão de alimentos fibrosos, constituídos por altos teores de fibra detergente neutra (FDN) (Hamada, 1973), em relação aos animais monogástricos (Parish, 2011; Sejrsen *et al*, 2008).

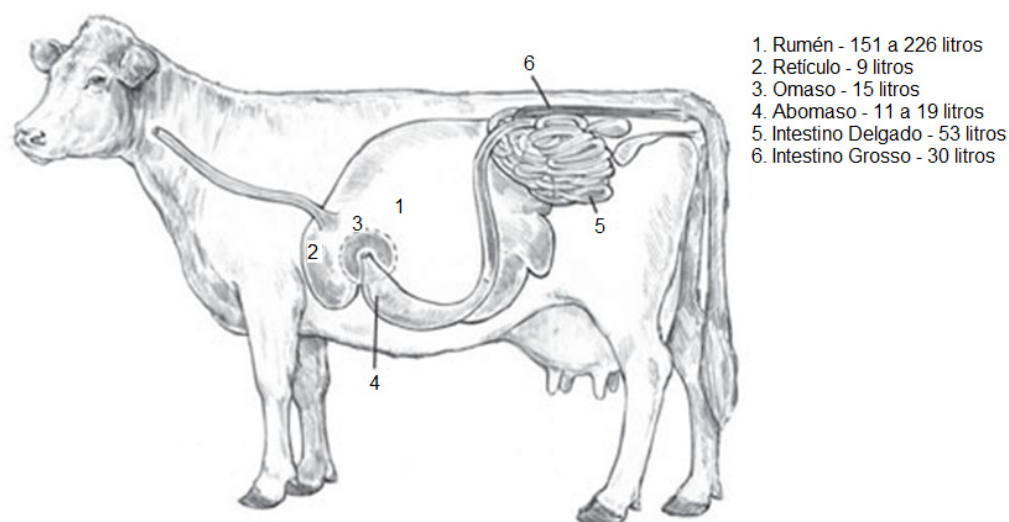
No entanto, a complexidade deste sistema por vezes é mais vulnerável a certos processos patológicos (Constable, Hoffsis, Rings, 1990b; Constable *et al*, 1990a). Algumas doenças surgem devido a factores que afetam o funcionamento da microbiota que reside no rúmen e que é responsável pela digestão e fermentação dos alimentos (Nocek & Tamminga,

1991), outros são o resultado da ingestão de objectos estranhos não alimentares (arames, cordas, plásticos). Todas estas condições podem causar desconforto, doença e, em alguns casos, a morte (Thomas, 2009).

O retículo é o primeiro compartimento gástrico, e possui, num animal adulto, uma capacidade de aproximadamente 9 litros. Se a vaca consome alguma estrutura metálica ou um elemento não digerível, esta estrutura em favos de mel, actua como um crivo e dificulta a passagem de qualquer objecto desse género para os restantes compartimentos. É neste compartimento que se inicia o ciclo de contração retículo-ruminal (Constable *et al.*, 1990b; Parish, 2011; Thomas, 2009).

O rúmen, dos quatro compartimentos gástricos é o compartimento de maior dimensão e mais musculado (Parish, 2011). Este órgão desenvolve-se anatomicamente em tamanho e estrutura, bem como em a actividade microbiana (Moran, 2002). É uma cuba de fermentação que pode conter 151 a 226 litros de material e é o principal local de acção microbiana (Parish, 2011; Thomas, 2009; Sejrsen *et al.*, 2008). Estima-se que em cinco mililitros de líquido ruminal existam aproximadamente 150 biliões de micro-organismos (bactérias, protozoários e fungos).

Figura 1 - Sistema digestivo da vaca e respectiva capacidade. Adaptado de Thomas, (2009).



As bactérias, que são um dos principais motores de digestão no rúmen, necessitam de um ambiente quente, húmido e livre de oxigénio para um crescimento óptimo (Sejrsen *et al.*, 2008). Este tipo de ambiente é naturalmente mantido a uma temperatura que varia entre os 37,7 e os 42,2 °C. Se as vacas tiverem acesso a uma alimentação apropriada, isto é, um balanço nutricional adequado e um rácio forragem/concentrado que promova um bom funcionamento do rúmen, o pH deve variar entre os 5,8 e os 6,4 para permitir o máximo de crescimento das várias espécies bacterianas (Ishler, 1996). No entanto quando o pH ruminal desce para valores abaixo de 6,2, segundo Calsamiglia, Ferret, & Devant, (2002),

Grant & Mertens, (1992) e Grant, (1994) a digestibilidade dos alimentos pela microbiota ruminal diminui.

O omaso tem uma capacidade de 15 litros e é denominado também como folhoso, dada a presença de grandes pregas musculares. No omaso, o tamanho das partículas é reduzido, e todo o excesso de água é retirado antes de entrar no abomaso. Além disso, também é um local de absorção de AGV que não são absorvidos no rúmen (Parish, 2011; Thomas, 2009).

O último compartimento é o abomaso com uma capacidade aproximada de 19 litros e é considerado o verdadeiro estômago onde os ácidos (e.g. ácido clorídrico) e enzimas endógenas actuam (Moran, 2002). O tempo de permanência da digesta neste espaço é relativamente curto em relação aos outros compartimentos (Parish, 2011; Thomas, 2009).

5.3. Produção de saliva e ruminação

A saliva dos ruminantes é isotónica e é rica em alguns iões (Tabela 2), particularmente sódio, fosfato e bicarbonato, que funcionam como agentes tampões durante todo o processo de digestão e fermentação. Uma vaca adulta pode produzir em média 100 a 200 litros de saliva por dia, sendo que, o processo de salivação é contínuo no ruminante. O volume de saliva é aproximadamente equivalente ao volume extracelular na maioria dos bovinos adultos. Este processo pode ser fugaz no tempo, se a alimentação dos animais for baseada em grandes quantidades de concentrados e forragens finamente cortadas. Isto ocorre porque, há uma menor estimulação dos receptores que se encontram na parede e pilares do rúmen (Cunningham & Bradley, 2008). Além disso, alimentos muito húmidos, como pastagem e silagem, podem reduzir a produção de saliva por quilograma de IMS em 50 por cento. Segundo Ishler, (1996) a produção de saliva pode cair drasticamente se a vaca não receber adequada fibra fisicamente efectiva (peFDN), a qual é definida como o resultado da multiplicação da quantidade de partícula da forragem, com granulometria $\geq 1,18\text{mm}$ ou $\geq 8\text{mm}$ dependendo do PSPS utilizado, e a percentagem da FDN presente na dieta.

Um ruminante adulto pode passar 6 a 8 horas a ruminar (Constable *et al.*, 1990b). O tempo que uma vaca passa a ruminar está directamente relacionado com a granulometria das partículas e a natureza da dieta (Constable *et al.*, 1990b). Existem quatro tipos especializados de padrões de contração que podem ser identificados no sistema retículo-rúmen: ciclo primário ou de mistura, ciclo secundário ou de eructação, ruminação (é uma modificação do primeiro ciclo) e encerramento da goteira esofágica (Constable *et al.*, 1990b).

O ciclo primário resulta na mistura e na circulação da digesta. Este ciclo inicia com uma contração bifásica no retículo que força a digesta a entrar no rúmen, que de forma sequencial prossegue com as contrações. Depois de finalizar o ciclo primário, a digesta volta novamente ao retículo, para se iniciar o processo de ruminação (regurgitação, remastigação, insalivação e deglutição) (Constable *et al.*, 1990b; Ishler, 1996).

O processo de ruminação inicia-se 30 a 90 minutos depois da alimentação, e dura em média 10 a 60 minutos (Constable *et al.*, 1990b). Este processo tem como função reduzir o tamanho das partículas, o que permite melhorar a *performance* da acção bacteriana e facilitar a passagem do conteúdo. E além disso, estimula também a produção de saliva (Constable *et al.*, 1990b), sendo que, quanto maior for o período em que o animal passa a ruminar maior será a quantidade de saliva produzida.

Tabela 2 - Composição química da saliva da vaca. Adaptado de Ishler, (1996).

Elemento	mEq/l ^a
Sódio	126
Potássio	6
Fosfato	26
Cloro	7
Bicarbonato	126

mEq/l^a - miliequivalentes por litro

5.4. Função do rúmen

O rúmen é o compartimento gástrico responsável por 65% da digestão num ruminante (Beecher *et al.*, 2014). Através dos seus receptores epiteliais e da sua musculatura agita e mistura os digesta (Constable *et al.*, 1990b), promovendo acessibilidade à acção da microbiota ruminal a partículas de alimentos mais grosseiros, favorecendo assim a digestão (Sejrsen *et al.*, 2008). O conteúdo ruminal sai do respectivo compartimento somente quando a dimensão da partícula o permite. A estrutura e a composição das camadas características do rúmen são influenciadas pela dieta e pelas contrações ruminais (Constable *et al.*, 1990b). Como mencionado anteriormente o rúmen é uma câmara de fermentação e os gases encontram-se na parte superior (Parish, 2011). Cerca de 500 a 1000 litros de gás são eructados pelos bovinos diariamente. Os principais gases estão descritos na Tabela 3 (Ishler, 1996; Parish, 2011; Sejrsen *et al.*, 2008).

Tabela 3 - Composição química dos principais gases do rúmen. Adaptado de Ishler, (1996).

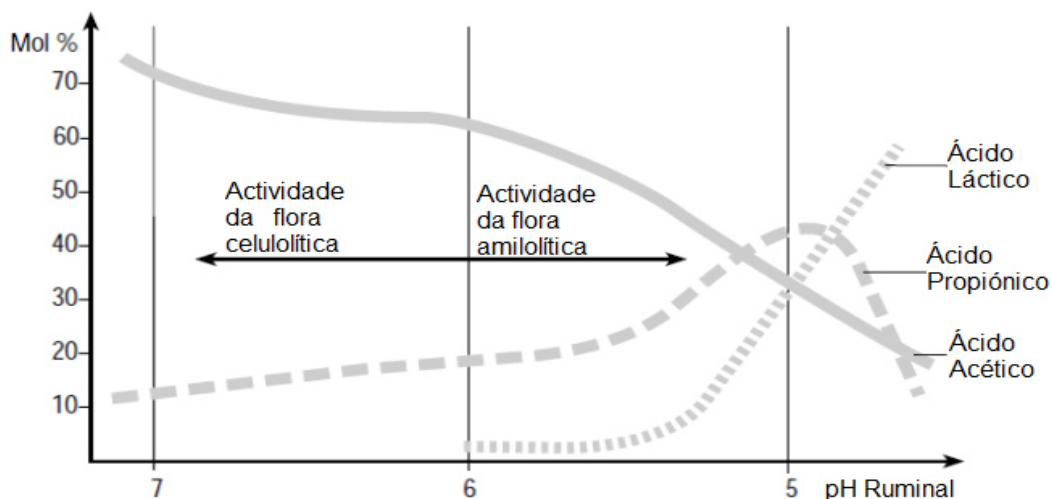
Elemento	Média (%)
Hidrogénio	0,2
Oxigénio	0,5
Nitrogénio	7
Metano	26,8
Dióxido de Carbono	65,5

A mucosa do rúmen é composta por papilas que são importantes elementos na absorção de nutrientes. A distribuição das papilas, o tamanho e o número estão directamente relacionadas com o rácio concentrado/forragem, disponibilidade forragem, digestibilidade dos alimentos e conteúdo em energia e proteína da dieta (Nocek & Tamminga, 1991; Beecher *et al.*, 2014). Assim, as dietas não devem ser alteradas drasticamente, mas sim de forma gradual. O desenvolvimento das papilas está directamente relacionado com a produção de ácidos gordos voláteis (AGV), nomeadamente ácido butírico e propiónico, resultantes da fermentação dos alimentos. O aumento da proporção de ácido butírico e propiónico, como acontece com dietas altas em cereais, aumenta o fluxo de sangue no epitélio ruminal, o qual estimula o processo de angiogénese e a proliferação de células epiteliais (Ishler, 1996).

5.5. Microbiologia ruminal

Quando proporcionamos rações equilibradas a vacas leiteiras, indirectamente também estamos a facultar substrato para as bactérias (Beecher *et al.*, 2014) ruminais (Gráfico 3), de forma a proporcionar um ambiente que maximize o seu crescimento e a sua produção (Sejrsen *et al.*, 2008). Assim, quando formulamos dietas para ruminantes temos que ter em conta não só o animal mas também a sua microbiota, em especial a ruminal. Sendo que os hidratos de carbono são a principal fonte de energia para os microrganismos ruminais (Nocek & Tamminga, 1991).

Gráfico 3 - Fermentação ruminal de acordo com o pH ruminal. Adaptado de Garry, (1983) citando Davis (1979).

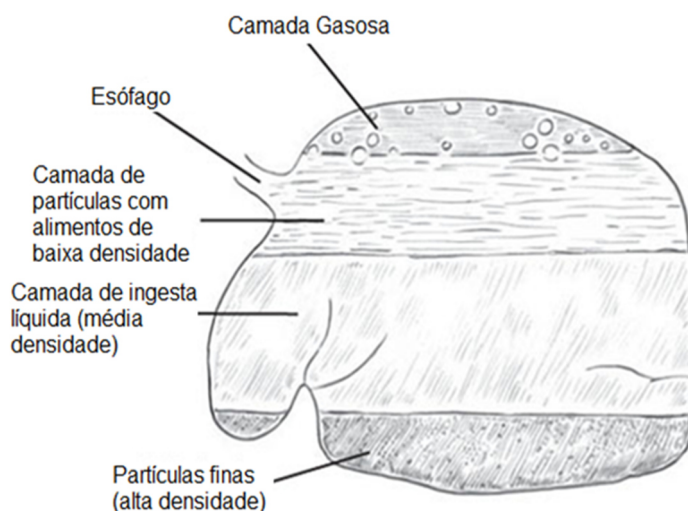


Da microbiota existente no rúmen, a que possui maior relevância é a bacteriana, sendo que, em média por grama de conteúdo ruminal existem 10^{10} a 10^{11} bactérias. Estas bactérias metabolizam produtos como celulose, hemicelulose, amido, açúcares, ácidos

intermediários, proteínas e lipídios, produzindo proteína microbiana e outros componentes que são *a posteriori* utilizados pela vaca (Sejrsen *et al.*, 2008). Além das bactérias existem outros tipos de micro-organismos como é o caso dos fungos e protozoários. O número destes organismos aumenta de acordo com a qualidade e digestibilidade da dieta, isto é, quanto mais equilibrada for a dieta maior será o número de micro-organismos por grama de conteúdo ruminal (Sejrsen *et al.*, 2008). No rúmen temos três fases, uma gasosa, uma líquida e uma sólida (Figura 2), onde se encontram, respectivamente, 5, 25 e 70 por cento dos micro-organismos. O ambiente ruminal para que estes organismos se desenvolvam tem que ser bastante controlado, sendo que o próprio valor de pH ruminal é por eles determinado (Beecher *et al.*, 2014). Um dos maiores limitantes ao crescimento são as variações que ocorrem a nível do pH ruminal (Calsamiglia *et al.*, 2002; Grant & Mertens, 1992; Grant, 1994).

Dada a complexidade deste sistema, todos os esforços para minimizar as alterações de fermentação e motilidade do mesmo são necessários. No entanto, um enfoque mais pronunciado nas vacas que se encontram no peri-parto (período de transição) é de extrema importância, dado que é nesta fase que ocorre um maior número de mudanças, tornando assim a vaca mais susceptível a qualquer tipo de alteração (LeBlanc, 2010; Leslie, Duffield, & LeBlanc, 2003).

Figura 2 - Camadas do rúmen. Adaptado de Thomas, (2009).



5.6. Período de transição - Nutrição

Os custos alimentares representam 45 a 70 por cento dos custos totais da exploração (Risco & Retamal, 2011). Assim a chave para maximizar a eficiência da exploração é manter níveis adequados de nutrientes monitorizando cuidadosamente os custos das matérias-primas e melhorando a eficiência da digestibilidade e aproveitamento dos

mesmos. Desta forma, quando níveis nutricionais óptimos são alcançados as vacas atingem excelentes níveis produtivos (quantidade e qualidade). Para além disso todas as formas de melhorar a saúde e a condição imunitária dos animais correspondem a poupanças em honorários veterinários, em manejo reprodutivo e em tratamentos (Galligan, 2006). Uma compreensão básica do manejo nutricional aplicada às vacas leiteiras é essencial para um bom manejo da exploração. A formulação de uma dieta equilibrada para vacas de leite não é um processo simples e requer a combinação de conhecimento científico, económico e de gestão, bem como, criatividade e boas técnicas de manejo para balancear as necessidades nutricionais do animal (Ishler, 1996).

De todas as formas um importante objectivo na alimentação de vacas leiteiras é fazer com que ingiram a maior quantidade possível de alimento composto complementar (ACC), de forma a maximizarem a produção, sem que esta situação culmine em qualquer tipo de doença. Isto de facto é uma tarefa difícil e desafiante no campo, porque as indicações de alimentar com grandes quantidades de hidratos de carbono facilmente fermentescíveis (diminui a IMS e a produção de leite) são muito parecidos aos resultados de alimentar com grande quantidade de fibra (novamente diminui a IMS e a produção de leite). A diferença é que neste último caso o risco para a saúde animal é menor (Oetzel, 2010).

Assim, quando falamos em nutrição devemos ter em conta que esta pode predispor para as designadas doenças da produção. As doenças da produção nas vacas leiteiras são uma manifestação da incapacidade das mesmas lidarem com as exigências metabólicas decorrentes das altas necessidades em energia. Este tipo de problema continua a ser uma das principais causas de perdas económicas e de bem-estar animal (Mulligan & Doherty, 2008). Tradicionalmente considerava-se apenas a hipocalcémia, a hipomagnesiémia e a cetose, como doenças metabólicas. Actualmente o conceito foi alargado, e é denominado de doenças da produção, incluindo aqui outras como, retenção da placenta, DA, laminite (Mulligan & Doherty, 2008) e acidose ruminal subaguda.

Durante estas últimas décadas, a selecção animal cingiu-se quase exclusivamente a características de produção, não olhando para o animal como um todo. Desta forma, a produção não foi acompanhada de eficiência produtiva, conduzindo muitas vezes a doenças e infertilidade. Deve referir-se que também a produção e os factores ambientais desempenham um papel importante no desencadeamento e evolução das doenças da produção (Galligan, 2006). No entanto, se consideramos a relação entre a produção de leite e as doenças da produção, é importante termos em conta que, as doenças da produção ocorrem mais provavelmente por desequilíbrios nas entradas e saídas de energia, do que somente na saída de energia (ex: produção de leite). Ingvarsen *et al.* (2003) defende a ideia de que não há relação entre o balanço energético e a produção de leite no início de lactação. Contudo afirma que o balanço energético no início da lactação

é a função entre a IMS e a produção de leite. Desta forma, a hipótese de que as vacas com altas produções têm mais predisposição a doenças metabólicas é provável que seja tão falso, como afirmar que as vacas com baixas produções são menos susceptíveis às mesmas doenças. Por outras palavras, uma vaca com uma produção relativamente baixa pode ter mais predisposição a sofrer duma doença de produção, se for exposta a um ou vários factores relevantes (limitada IMS e/ou stress ambiental), do que uma vaca com um potencial para uma alta produção leiteira não exposta ao mesmo problema (limitada IMS e/ou stress ambiental).

O período de transição clássico medeia as três semanas antes e após o parto (Grummer, 1995). Este período é marcado por intensas alterações tanto a nível endócrino como metabólico, e caracteriza-se também pela redução da IMS no momento em que as necessidades nutricionais para o desenvolvimento do feto e para a lactogénese aumentam (Grummer, 1995; Melendez & Risco, 2005). Não obstante, estas vacas passam por um período de imunossupressão e por um período de *stress* associado ao parto e a alterações de grupo. Além disso, frequentemente têm que lidar com alterações bruscas da dieta que podem potenciar problemas digestivos (Mulligan & Doherty, 2008). Desta forma, fica explícito que a combinação destes factores torna o período de transição, o momento no qual, os animais estão mais susceptíveis ao desenvolvimento de doenças da produção. Ingvarsen *et al.* (2003) afirma que o período de maior incidência de doenças da produção ocorre nos primeiros 10 dias pós-parto. Assim sendo, muitas medidas nutricionais e de manejo têm sido reportadas como acções que alteram o grau de balanço energético negativo (BEN), hipocalcémia, imunossupressão e alterações digestivas que acometem a vaca de transição. Dado o carácter multifactorial das doenças da produção, a vaca de transição encontra-se muitas vezes vulnerável a doenças infecciosas, a problemas de fertilidade, a diminuição da produção e a claudicações. Por exemplo, vacas em BEN acentuado e com acidose ruminal subaguda têm mais probabilidade de sofrer de imunossupressão e laminite (Enemark, 2008a).

De forma a controlar e monitorizar o nível nutricional das vacas leiteiras e a adequabilidade da dieta que está a ser ministrada, existem vários parâmetros e ferramentas, que, usados em conjunto podem facultar, de forma directa e/ou indirecta, informações imprescindíveis para o manejo nutricional e alimentar das vacas leiteiras. Dentro desses parâmetros pode-se referir, os teores de butirico, proteico e ureico e a contagem de células somáticas no leite. Além disso pode-se usar o PSPS, o termómetro, instrumentos de avaliação de β HB (sanguíneo ou no leite), bem como métodos para aferir o pH ruminal (sonda oro-esofágica ruminal). Desta forma, debruçar-me-ei sobre alguns destes aspectos, sendo que a monitorização do β HB e pH ruminal serão desenvolvidos com as respectivas doenças (cetose subclínica e acidose ruminal subaguda).

5.7. Avaliação nutricional e doenças subclínicas

5.7.1. Penn State Particle Separator

Actualmente, o maior desafio na alimentação de vacas leiteiras altamente produtoras é conciliar dietas com elevada densidade energética, necessária para suportar as altas produções e as necessidades de manutenção do animal, com adequada quantidade de peFDN, de modo a prevenir problemas ruminais (Zebeli *et al.*, 2012). Uma gestão adequada entre, a peFDN e os hidratos de carbono facilmente fermentescíveis (HCFF) é difícil, mas crucial. Tanto para manter estável e saudável o metabolismo ruminal como o *status* metabólico, culminado na melhoria do bem-estar animal, produtividade e rentabilidade da exploração (Zebeli *et al.*, 2012). Quando estes esforços falham podem contribuir para a ocorrência de doenças nomeadamente, ARSA (Enemark, 2008). Dada a ARSA ser uma síndrome multifactorial, os nutricionistas têm concebido uma variedade de sistemas para determinar o efeito da dieta sobre a descida do pH ruminal. Um deles é o uso do PSPS que é um instrumento constituído por quatro caixas sendo que três delas são constituídas por crivos de diferentes granulometrias (Tabela 4). Este instrumento permite separar a *total mixed ration* ou outros alimentos (silagem de erva e milho) pelo tamanho da partícula, ou seja, na caixa de granulometria ≥ 19 mm ficam as partículas de comprimento maior e na última caixa ficam as partículas com tamanhos inferiores a 1,18 mm. A partir destes resultados e com a análise química dos alimentos ou TMR podemos prever o peFDN.

Tabela 4 - Descrição da granulometria dos vários crivos do PSPS e os respectivos alimentos que podem ser analisados, com os respectivos valores padrão. Adaptado de Heinrichs, (2013)

Caixa	Granulometria (mm)	Silagem de Milho	Silagem de erva	TMR
Caixa do topo	≥ 19	3 a 8%	10 a 20%	2 a 8%
Segunda caixa	≥ 8 e < 19	45 a 65%	45 a 75%	30 a 50%
Terceira caixa	$\geq 1,18$ e < 8	20 a 30%	30 a 40%	10 a 20%
Caixa do fundo	$< 1,18$	$< 10\%$	$< 10\%$	30 a 40%

O peFDN destaca-se pela preponderância na gestão da ARSA (Lechartier & Peyraud, 2010) e além disso permite prever a fracção da dieta fibrosa que estimula a salivacção e que contribui para a camada de tapete (*mat layer*) do rúmen (Oetzel, 2010). A formação das várias camadas no rúmen, *mat layer*, é considerado um pressuposto, bem como um bom indicador, de uma adequada função ruminal em vacas leiteiras, devido às suas duas principais funções fisiológicas. A primeira é a optimização do microambiente ruminal, em especial o pH, por estimulação física da ruminação, salivacção e motilidade ruminal. A

segunda é promover a retenção de partículas, permitindo assim uma digestão mais eficiente dos alimentos presentes no rúmen (Tafaj *et al.*, 2004).

Vários estudos foram realizados para determinar o efeito do peFDN na mastigação e no pH ruminal nas vacas leiteiras (Krause, Combs, & Beauchemin, 2003; Kononoff, Heinrichs, & Buckmaster, 2003; Beauchemin & Yang, 2005), dado que este conceito integra constituintes químicos e estruturais que actuam entre si, de modo a estabilizar a fermentação ruminal e o equilíbrio ácido-base (Mertens, 1997). No entanto, segundo Krause *et al.*, (2002) o peFDN da dieta não permite prever precisamente o pH ruminal dado que não reflete a fermentação ruminal, a qual tem maior efeito no pH ruminal, apesar de conduzir a um aumento da capacidade de mastigação e por norma, culminar num aumento do pH ruminal e consequentemente ajudar a diminuir a ARSA (Beauchemin *et al.*, 2003; Teimouri Yansari *et al.*, 2004). Não obstante, em outros estudos, a ingestão de peFDN esteve fracamente relacionada com a atividade de mastigação e o pH ruminal (Kononoff, Heinrichs, & Buckmaster, 2003; Yang & Beauchemin, 2006a). A atividade de mastigação pode aumentar com o aumento da ingestão de peFDN sem elevação do pH ruminal, particularmente quando as dietas contêm altas fontes de HCFF (Kononoff, Heinrichs, & Lehman, 2003; Kononoff, Heinrichs, & Buckmaster, 2003; Beauchemin & Yang, 2005).

Outro estudo como é o caso do realizado por Geishauser *et al.*, (2012) demonstra que o tempo de ruminação aumenta quando aumenta o peFDN.

Isto pode acontecer porque, o tamanho da fibra e os constituintes da dieta têm inúmeros efeitos no comportamento alimentar, na mastigação, na ruminação, na taxa de passagem, na fermentação ruminal e balanço ácido-base, conduzindo a um complexo e não linear relacionamento entre o tamanho da partícula e as características da função ruminal (Zebeli, Tafaj, Steingass, Metzler, & Drochner, 2006).

No entanto, o peFDN parece ser mais vantajoso do que somente o tamanho de partícula ajudando a prevenir o viés relacionado entre as diferenças na granulometria e o conteúdo em FDN. Contudo, o uso do conceito peFDN como um método de rotina para determinar a adequabilidade da fibra dietética em vacas leiteiras ainda não foi estabelecida devido a algumas limitações.

Uma das razões para que a comunidade científica se mantenha relutante em aceitar o conceito peFDN é a falta de evidência suficiente, entre a real eficácia física dos alimentos e as respostas digestivas por parte da vaca no que compete a manutenção do pH ruminal, ao risco de ARSA, e digestibilidade dos alimentos. Isto porque, os resultados das pesquisas relativas a esta questão não foram conclusivos em muitos casos. Mertens, (1997) verificou que alimentação com diferentes peFDN na dieta afectou pH ruminal e digestibilidade da fibra em algumas das suas experiências, mas por outro lado Zebeli *et al.*, (2006) não constatou os mesmos resultados. Esta discrepância de resultados dificulta a elaboração

de conclusões sobre os efeitos da peFDN na alimentação de vacas leiteiras. Portanto, as composições da dieta com diferentes concentrações de cereais e com graus de fermentação diferentes podem explicar estas discrepâncias de resultados apresentados (Zebeli *et al.*, 2006). Por exemplo, as respostas a nível ruminal podem ser completamente diferentes quando em vez de milho é colocada cevada na formulação da dieta, isto mesmo que a dieta contenha a mesma quantidade de peFDN (Rhorasani *et al.*, 2001; Zebeli *et al.*, 2006b; Weber, 2007). Na verdade, o conceito peFDN não tem em consideração as diferenças de fermentabilidade dos alimentos no rúmen, bem como o valor acidogénico de cada alimento, o que limita a capacidade de fomentar a prática de uso dos valores de peFDN na formulação de dietas para ruminantes, dado que estes podem ter um maior ou menor efeito no pH ruminal (Yang, Beauchemin, & Rode, 2001; Krause *et al.*, 2002).

Por último, têm sido colocadas questões relacionadas com os efeitos antagónicos na *performance* do animal. Por um lado, dietas com tamanho de partícula longa, aumenta o conteúdo de peFDN na dieta, com efeito positivo na ruminação e no poder tampão, diminuindo o risco de ARSA (Mertens, 1997), mas por outro, pode diminuir a digestibilidade da fibra no rúmen, dada a baixa exposição a que está submetida para o ataque pelos microorganismos e assim diminui a ingestão de alimento e o *uptake* de nutrientes bem como conduz a uma diminuição da taxa de passagem do conteúdo digerido (Storm & Kristensen, 2010).

Perante o exposto, vários testes com diferentes cortes de forragem foram realizados. Segundo Zebeli *et al.*, (2012) o corte da forragem com comprimentos de 4 a 6 mm afecta negativamente a atividade de ruminação e a fermentação ruminal nas dietas que contem quantidades relativamente elevadas de concentrado (50 a 60%). Por outro lado, uma moderada diminuição do tamanho da partícula entre 10 a 15 mm de comprimento demonstrou promover a degradação ruminal, muito provavelmente por promover uma área de ligação das bactérias ruminais fibrolíticas e protozoários, sem afectar negativamente a atividade celulolítica e outros processos de fermentação no rúmen (Zebeli, Tafaj, *et al.*, 2008).

Tendo em conta o exposto depreende-se que o tamanho da partícula na dieta dos ruminantes é de extrema importância e segundo Heinrichs & Kononoff, (2013) a dieta em regime de TMR deve conter pelo menos 40% das partículas com granulometria ≥ 8 mm.

5.7.2. Constituintes do leite e a sua importância

O preço do leite está indexado à sua qualidade e quantidade, sendo que, no futuro, prevê-se que o mesmo passe a estar indexado ao teor de caseína, dado que é a proteína do leite que mais influência, por exemplo, o rendimento queijeiro (Caroli, Chessa, & Erhardt, 2009).

Desta forma, urge melhorar o conhecimento de todas as vias metabólicas envolvidas na produção de leite e em concreto na síntese da gordura e da proteína de modo a que o produtor possa obter maior retorno económico na produção, e o consumidor possa desfrutar de leite de melhor qualidade e com mais benefícios para a saúde. Por isso, à medida que o genoma bovino é conhecido, mais são as oportunidades de obter leite com uma composição específica (Caroli *et al.*, 2009). A nutrição continuará a ser uma parte integrante da investigação que visa expressar o potencial genético do animal, sob o ponto de vista da quantidade e da qualidade do leite (Firkins, Hristov, Hall, Varga, & St-Pierre, 2006). Assim prevê-se que as maiores oportunidades de manipulação da composição do leite sejam dirigidas de modo a possibilitar e potencializar a incorporação de nutrientes funcionais (nutrientes com características medicinais), com o objectivo final de usar o leite para a melhoria da saúde humana, controlo e prevenção de algumas doenças (Jenkins & McGuire, 2006; Caroli *et al.*, 2009).

Os princípios constituintes do leite são, a água, a gordura, a proteína a lactose e os minerais (Tabela 5) cujos teores podem ser influenciados por uma panóplia de factores nomeadamente: a genética/raça do animal, meio ambiente, estado de lactação, número de lactações, estação do ano e nutrição (Looper, Waldner, Stokes, & Jordan, 2001; Caroli *et al.*, 2009). Todavia, a nutrição é o factor que mais influencia o teor de sólidos no leite, apesar de todos interagirem para obter a composição final (Jenkins & McGuire, 2006; Rego *et al.*, 2009; Cabrita, Bessa, Alves, Dewhurst, & Fonseca, 2007).

Tabela 5 - Composição base do leite de vaca. Adaptado de Stokes *et al.*, (2000)

Raça	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	Cinzas (%)	Sólidos totais (%)
Holstein	3,5	3,1	4,9	0,7	12,2

Segundo os nutricionistas, um leite "ideal" não conteria mais do que 8% de ácidos gordos saturados e não menos que 10% de ácidos gordos polinsaturados sendo que os restantes 82% deveriam apresentar-se como ácidos gordos monoinsaturados (Jenkins & McGuire, 2006). Assim, muitos dos estudos realizados até ao momento visam explorar o uso de suplementos de gordura, de modo a alterar o perfil de ácidos gordos no leite. Além disso, pretendem compreender os mecanismos de controlo de biohidrogenação dos ácidos gordos polinsaturados, por micro-organismos ruminais, e a captação e utilização dos mesmos pela glândula mamária (Jenkins & McGuire, 2006).

De todos os constituintes excretados no leite a gordura, a proteína e a ureia, são os principais produtos que nos permitem fazer valorações e interpretações sobre o estado nutricional das vacas e o equilíbrio das dietas (Zebeli, Dijkstra, *et al.*, 2008; Broderick & Clayton, 1997; Johnson & Young, 2003).

5.7.2.1. Gordura

A gordura é o principal componente energético do leite e é responsável por muitas das propriedades físicas, de fabricação e de qualidade organoléptica do leite e produtos lácteos (Bauman & Griinari, 2003). Em todos os mamíferos este componente do leite é composto predominantemente por triglicéridos (mais de 95%). No entanto, o conteúdo real de gordura do leite varia muito entre as espécies. Por exemplo, o TB pode ultrapassar os 50% em pinípedes e baleias, mas em outros mamíferos, como é o caso do rinoceronte, é de apenas 1% (Bauman & Griinari, 2003).

O TB de vaca apresenta valores na ordem dos 4% (Jenkins & McGuire, 2006). De todos os constituintes do leite, o TB é o mais susceptível a alterações da dieta, podendo por vezes sofrer variações na ordem das 3 unidades percentuais (Looper *et al.*, 2001), dado que os outros sólidos não respondem de forma tão directa às alterações da dieta.

5.7.2.1.1. Alteração do teor butiroso no leite

Dos factores anteriormente mencionados há alguns que afectam mais o TB do que outros. Há varias formas de alterarmos o conteúdo de gordura no leite através da dieta (Drackley, Donkin, & Reynolds, 2006; Palmquist, 2006; Cabrita *et al.*, 2007; Rego *et al.*, 2009). Uma delas é pelo aumento das concentrações de amido acima de um nível considerado óptimo, o que conduz a uma diminuição da gordura (Palmquist, Denise Beaulieu, & Barbano, 1993). Outra forma é quando suplementamos a ração das vacas com gordura, dado que aquando da sua suplementação a síntese *de novo* de ácidos gordos diminui linearmente (Drackley *et al.*, 2006; Rego *et al.*, 2009), sempre e quando a mesma aumenta de 1 a 5% na dieta total (Palmquist *et al.*, 1993). Por outro lado, se aumentarmos em demasia a quantidade de proteína na dieta, pode dar-se um aumento de mobilização de tecido adiposo no início da lactação, o que se pode traduzir num aumento da proporção de ácidos gordos de cadeia longa no leite (Palmquist *et al.*, 1993). A sazonalidade também influencia as variações de gordura no leite, este factor pode conduzir a alterações, tanto pela variabilidade das forragens, como pelas variações da temperatura, sendo que nos meses de verão podemos ter quebras acentuadas do TB (Palmquist, 2006).

Segundo Palmquist *et al.*, (1993) a fase da lactação também conduz a alterações no TB, uma vez que as vacas em BEN (normalmente no início da lactação) sofrem uma elevada mobilização de ácidos gordos e consequente incorporação dos mesmos como ácidos gordos de cadeia longa no leite conduzindo assim ao aumento do TB.

O uso de probióticos como é o caso da monensina também podem conduzir a alterações nos valores de gordura do leite (Duffield, Bagg, Kelton, Dick, & Wilson, 2003). No estudo realizado por (Duffield *et al.*, 2003) demonstrou-se que as vacas que recebiam monensina

tinham uma média de teores de gordura no leite de 3,39%, comparativamente com o grupo controlo que apresentava 3,61% ($p=0,002$). No entanto, quando avaliamos o tamanho da partícula e verificamos que a percentagem de partículas de granulometria $\geq 19\mu\text{m}$ (PSPS19) é inferior a 6%, o efeito da monensina é marcado na redução da gordura do leite, enquanto que, com valores superiores a 6% na mesma caixa, a diferença no TB deixa de ser estatisticamente significativo (Duffield *et al.*, 2003).

Uma das situações que mais se tem estudado no que se refere à diminuição do TB, é a chamada “Síndrome de Depressão do teor de Gordura do leite” (SDG).

5.7.2.1.2. Síndrome de depressão do teor de gordura no leite

O SDG representa um problema biológico caracterizado por relações entre os processos digestivos e o metabolismo que ocorre no tecido mamário (Bauman & Griinari, 2003). O estudo e compreensão desta síndrome tem especial interesse, dado que, como os produtores são beneficiados monetariamente pelos maiores teores de gordura no leite, todas as situações que o causem ou evitem a sua diminuição devem ser tidas em conta. Além disso, as alterações do TB ($< 3,0\%$) por norma estão associados a diversos problemas. Logo, diversas teorias têm sido propostas para explicar SDG.

A primeira teoria é que as alterações da fermentação ruminal conduzem a uma produção inadequada de acetato e butirato no rúmen (Bauman & Griinari, 2003). Contudo, estudos levados a cabo por Davis & Brown (1970) citado por Bauman & Griinari, (2003) desmistificaram esta hipótese.

A segunda teoria diz que, o aumento da produção de propionato no rúmen e das taxas de gluconeogénese hepática causam um incremento da circulação de insulina que culmina com uma escassez de precursores para a síntese de gordura na glândula mamária (Grant, Colenbrander, & Mertens, 1990). Segundo Grant *et al.*, (1990) a redução da gordura do leite por esta via não se verifica.

A terceira teoria é a que tem ganho mais consenso ao longo da última década, e fomenta que, a síntese de gordura ao nível da glândula mamária é inibida por ácidos gordos resultantes de processos de biohidrogenação no rúmen (Bauman & Griinari, 2003; Bessa, Santos-Silva, Ribeiro, & Portugal, 2000). Sendo que desses ácidos o que desempenha um papel mais marcado é o isómero trans-10 (Jenkins & McGuire, 2006). Um factor que pode potencializar a produção destes isómeros é a manipulação (moagem, extrusão, peletização) que os cereais e sementes oleaginosas são comumente expostos, de modo a melhorar o seu consumo e ou digestibilidade por parte dos animais. Estes processos podem reduzir significativamente a resistência à biohidrogenação (Jenkins & McGuire, 2006).

Toda esta investigação ao nível do teor de gordura do leite e nos processos de síntese enquadra-se, não somente na saúde animal, mas também na saúde do consumidor. Uma vez que, alguns ácidos gordos como é o caso em particular do cis-9 trans-11 CLA tem propriedades anticancerígenas (Bessa *et al.*, 2000) revelando assim grande interesse para a saúde humana (Jenkins & McGuire, 2006). No decorrer destes estudos descobriu-se que a Δ^9 -desaturase existente na glândula mamária foi a fonte predominante dos isômeros cis-9, trans-11 CLA no leite (Jenkins & McGuire, 2006).

A percentagem de gordura no leite está muitas vezes associada a casos de descida de pH ruminal e consequentemente a ARSA. Contudo, o efeito é inconsistente (Enemark, 2008) porque podemos estar perante uma situação de ARSA sem termos uma situação de SDG, sendo que normalmente esta última ocorre apenas se a ARSA persistir por alguns dias ou por aparecimento de casos repetidos no tempo (Krause & Oetzel, 2005). A percentagem de gordura no leite nos primeiros dias em leite (DEL) é particularmente não responsiva à ARSA (Enemark, Jørgensen, & Kristensen, 2004). Muitos outros factores não relacionados com a ARSA também influenciam a percentagem de gordura no leite (Bauman & Griinari, 2003).

5.7.2.2. Proteína

Quando fornecemos HCFF à vaca em regime controlado, automaticamente aumentamos a produção de propionato e proteína microbiana e consequentemente temos um aumento da produção de leite e do conteúdo de proteína no mesmo (Palmquist *et al.*, 1993).

Segundo alguns estudos, quando aumentamos 1 unidade percentual de proteína na dieta verificamos que no leite ocorre aproximadamente um aumento de cerca de 0,02 unidades percentuais (Jenkins & McGuire, 2006). Desta forma, constata-se uma baixa eficiência de transferência (25 a 30%) da proteína da dieta para o leite. Isto representa assim, uma incapacidade da dieta alterar de forma marcada o conteúdo de proteína no leite (Jenkins & McGuire, 2006). No entanto, tem-se constatado que a glândula mamária tem a capacidade de alterar a absorção de substratos, em resposta a alterações nas concentrações de aminoácidos (AA) no sangue circulante. Assim, o fluxo de sangue arterial na glândula mamária, desempenha um papel importante na actividade metabólica de modo a melhorar a quantidade de proteínas no leite (Jenkins & McGuire, 2006). Um outro factor que influencia a secreção de proteínas no leite é a quantidade de gordura na dieta. Portanto, em média, o teor proteico do leite (TP) diminui 0,03 unidades percentuais para cada 100 g de ingestão de gordura suplementar, ou cerca de 0,1 a 0,3 unidades percentuais para os níveis típicos de gordura da dieta (Jenkins & McGuire, 2006). Um dos mecanismos propostos para que esta situação ocorra é que, um aumento de ácidos gordos no sangue

derivados da suplementação de gordura exógena, diminuiu a libertação de somatotropina, o que por sua vez reduz a absorção de AA pela glândula mamária (Jenkins & McGuire, 2006).

Perante o exposto, verifica-se que o reforço das proteínas específicas no leite para melhorar a saúde humana será importante. No entanto, dado que a composição proteica do leite é menos sensível a dieta do que o TB, a sua manipulação provavelmente será pós-colheita (Jenkins & McGuire, 2006).

No que compete à avaliação nutricional das vacas leiteiras uma avaliação da relação dos teores de butíricos e proteicos no leite permitem-nos entender o que se passa a nível alimentar.

5.7.2.3. Relação proteína gordura

Normalmente a percentagem de proteína segue as variações da gordura no leite. Porém, se níveis altos gordura estiverem a ser disponibilizados às vacas, poderá ocorrer um processo de diminuição acentuada de gordura, não acompanhado pela proteína (Looper *et al.*, 2001). Assim, se o rácio proteína/gordura for menor que 0,80 para Holsteins, pode-se estar perante uma depressão da proteína (Looper *et al.*, 2001). Todavia, se o rácio for maior que 0,95, provavelmente estamos a ser confrontados com o SDG (Looper *et al.*, 2001). Caso o TB esteja 0,2 unidades abaixo do TP (e.g. 2,8 e 3,0 respectivamente) poderá existir ARSA. Não obstante, se mais de 20% das vacas tiverem os valores de gordura abaixo dos 3,0% devemos reavaliar a dieta (Looper *et al.*, 2001). Segundo Stokes *et al.*, (2000) para a raça Holstein Frísia os valores devem encontra-se entre os 0,80 - 0,83.

5.7.2.4. Ureia

O azoto ureico no leite (MUN) é um teste não invasivo de estimar o conteúdo de proteína e energia da dieta (Baker, Ferguson, & Chalupa, 1995; Jonker, Kohn, & Erdman, 1998; Dhali, Mehla, Sirohi, Mech, & Karunakaran, 2006). Concentrações altas de ureia no leite podem advir de excesso de proteína na dieta ou deficiência de HCFF (Baker *et al.*, 1995). Além disso, através da MUN podemos mensurar a eficiência da utilização de nitrogénio (Johnson & Young, 2003; Baset, Huque, Sarker, Hossain, & Islam, 2010). Segundo Johnson & Young, (2003) a MUN tende a ser mais baixa nos primeiros 30 DEL, comparativamente com os restantes. No entanto, outros estudos afirmam que os DEL não influenciam a MUN, sendo que esta situação estará mais relacionada com questões alimentares (Schepers & Meijer, 1998). Os valores de referência para a MUN situam-se entre os 11 e 17 mg/dl (Baker *et al.*, 1995). De modo a interpretar os TP e MUN poder-se-á recorrer à Tabela 6.

Tabela 6 - Correlação entre os teores de proteína e a MUN e o respectivo significado. Adaptado de González, Durr, & Fontanelli, (2001) citando de Hutjens (1996).

% de proteína do leite	MUN <12 mg/dl	MUN >12 e < 17 mg/dl	MUN >18 mg/dl
Abaixo de 3,0	<ul style="list-style-type: none"> •Deficiência de : <ul style="list-style-type: none"> - PB - Proteína degradável - Proteína Solúvel 	<ul style="list-style-type: none"> •Deficiência de: <ul style="list-style-type: none"> - PB - HCFF - AA 	<ul style="list-style-type: none"> •Deficiência de: <ul style="list-style-type: none"> - PB - Proteína degradável - Proteína Solúvel •Deficiência de: <ul style="list-style-type: none"> - HCFF •Desequilíbrio em AA
Acima de 3,2	<ul style="list-style-type: none"> •Equilíbrio em AA •Deficiência de: <ul style="list-style-type: none"> - Proteína degradável - Proteína Solúvel •Excesso de: <ul style="list-style-type: none"> - HCFF 	<ul style="list-style-type: none"> •Equilíbrio em AA •Equilíbrio em HCFF 	<ul style="list-style-type: none"> •Excesso de: <ul style="list-style-type: none"> - Proteína degradável - Proteína Solúvel •Deficiência de: <ul style="list-style-type: none"> - HCFF

1mg/dl - 10ppm; PB – proteína bruta

5.7.3. Outras avaliações

5.7.3.1. Avaliação da temperatura ambiente dentro e fora dos estábulos

Todos os animais possuem uma zona denominada termo neutra. Esta zona é caracterizada pela temperatura máxima e mínima na qual o animal consegue expressar todo o seu potencial fisiológico. Os valores durante os quais a vaca leiteira se mantém estável variam entre os 5 °C e os 25 °C (Jones & Stallings, 1999). A partir do momento que ultrapassa o limite superior ou inferior o animal padece de *stress* térmico. Quando mencionarmos *stress* térmico, consideraremos o que ocorre por calor.

Existe um conjunto de factores que contribuem para o *stress* térmico, nomeadamente, a temperatura, a humidade e a radiação solar (West, 1999). Portanto, o *stress* térmico pode ser definido como a incapacidade da vaca dissipar calor (Chase, 2007). Um dos índices que melhor expressa o *stress* térmico é o *temperature humidity index* (THI) este índice tem em conta os valores de humidade e temperatura. A formula de cálculo do THI é $(1.8 \times Tdb + 32) - (0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times Tdb - 26)$, sendo que Tdb é a temperatura do ambiente (°C) e o RH é a humidade relativa (%) (NRC, 1971). Com um THI >72, a vaca começa a sofrer de *stress* térmico (Tabela 7). Contudo, Bouraoui, Lahmar, Majdoub, Djemali, & Belyea, (2002) afirma que em países mediterrâneos podemos ter impacto na produção e na ingestão quando os valores de THI ultrapassam os 69, dado ter verificado que, por cada ponto que a THI aumenta acima dos 69 a produção diminui 0,41 kg/vaca. Por outro lado Zimbelman, (2009) afirma que a partir de THI iguais ou superiores a 68 a vaca leiteira já sofre de *stress* térmico (Anexo B).

Tabela 7 - Valores de THI e os respectivos graus de *stress* térmico. Adaptado de Chase, (2006).

THI	< 72	72 - 79	80 - 89	90 - 98	> 98
Nível de stress	Nenhum	Leve	Moderado	Grave	Muito grave

No entanto, mesmo não medindo o THI, se tivermos o valor da temperatura podemos prever se as vacas estão sob *stress* térmico, ou não. Se considerarmos que a humidade média no verão/outono é de 45% a uma temperatura de 22 °C, as vacas já podem sofrer de *stress* térmico (Anexo B). Além disso, deveremos ter em conta que o nível de *stress* térmico para um ser humano, é completamente diferente do nível das vacas leiteiras. Ou seja, nas mesmas condições de humidade (45%) o ser humano só começaria a sofrer de *stress* térmico ligeiro, quando a temperatura atingisse os 26 °C (Anexo B). Segundo Jones & Stallings, (1999) podemos ter uma diminuição da IMS em 8 a 12% e uma perda de 20 a 30% de produção sempre que a temperatura exceda os 32 °C. De acordo com (West, 1999) citando Johnson *et al*, (1963) a produção de leite diminui quando a temperatura rectal excede os 38,9 °C, sendo que por cada vez que aumenta 0,55 °C, a ingestão de matéria seca e a produção de leite diminuem 1,8 e 1,4 kg, respectivamente. Na Tabela 8, também podemos observar variações na produção e IMS à medida que a temperatura aumenta.

Por outro lado, além das perdas de produção leiteira e diminuição da IMS, o *stress* térmico pode predispor a vaca a um episódio de ARSA (West, 1999; West, 2003; Krause, 2009). De modo a diminuir o impacto desta situação muitas medidas podem ser tomadas, como é o caso de disponibilizar água *ad libitum*, construção e disponibilização de equipamentos de arrefecimento dos pavilhões, bom manejo da alimentação e ajuste de fórmulas e controlo das moscas que são mais abundantes em casos de THI elevado (Jones & Stallings, 1999; Chase, 2006).

Tabela 8- Alterações relativas nas necessidades de manutenção e de IMS quando a temperatura aumenta e os resultados na IMS real e produção. Adaptado de Staples, (2007).

Temperatura (°C)	Energia de manutenção ¹	IMS necessária (kg/dia)	IMS real (kg/dia)	Produção de leite (kg/dia)
20	100	18,1	18,1	26,9
25	104	18,4	17,6	24,9
30	111	18,9	16,9	22,9
35	120	19,4	16,7	18,0

¹Considerando uma vaca que produz 26,9 kg/dia de leite a uma temperatura ambiente 18 a 20 °C.

Convém referir que os custos anuais associados ao *stress* térmico são elevadíssimos, os EUA calculam anualmente perdas na ordem dos $\pm 2,1$ biliões de euros (Chase, 2007). Pelo exposto, todas as medidas economicamente viáveis que permitam diminuir o *stress* térmico devem ser implementadas.

5.7.3.2. Avaliação da temperatura dos alimentos.

A produção agrícola, devido às alterações climáticas, ao crescimento populacional e à perda de terrenos agrícolas, enfrenta desafios em todo o mundo. Desta forma, uma optimização da eficiência produtiva no maneiio dos alimentos é extremamente relevante para a produção de alimentos de forma sustentável e económica (Koehler, Diepolder, & Ostertag, 2013) citando Humphreys *et al*, (2009)). Assim, uma das formas de melhorar a eficiência é a redução das perdas (e.g. valor nutritivo; deterioração) nos silos. Um sistema de produção de silagem eficiente deve assegurar um mínimo de perdas e produzir uma silagem de alta qualidade (Koehler *et al*, 2013). Em relação às perdas de ensilagem e armazenamento, as investigações apontam para perdas médias de 16% e 32% segundo Koehler *et al*, (2013) citando Watson and Nash (1960) e Bastiman and Altman (1985), respectivamente. Contudo, segundo Zimmer (1980) citado por Koehler *et al*, (2013), somente 7% de perdas é que não podem ser evitadas, ou seja, tudo acima deste valor pode ser questionado quanto às práticas de ensilagem e armazenamento. De acordo com o estudo realizado por Koehler *et al*, (2013) 8% é o valor de perdas que será inevitável diminuir, independentemente da cultura. Não obstante é importante referir que a maioria dos alimentos disponíveis para alimentação animal, quando mal armazenados, estão sujeitos a perdas.

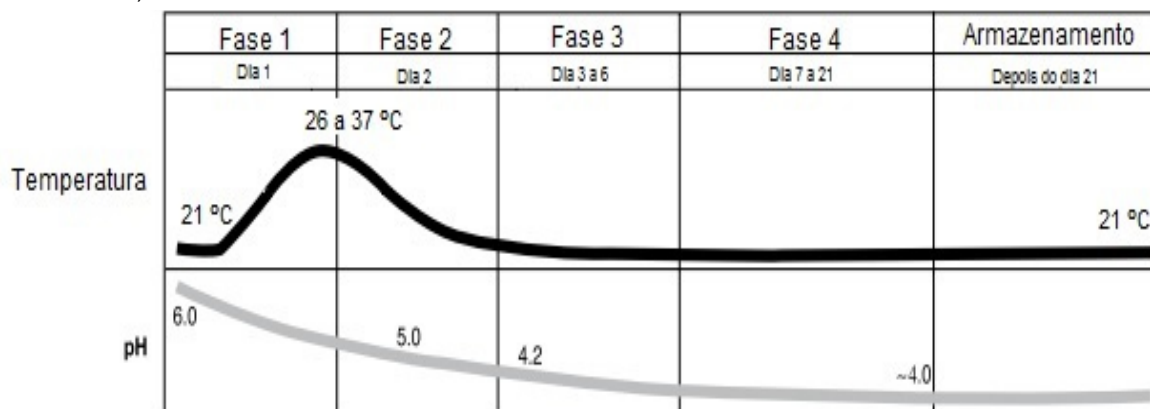
Existem vários parâmetros para avaliar a estabilidade dum alimento e o seu grau de perdas. Entre esses parâmetros temos, a percentagem de matéria seca (MS), a quantidade de ácido láctico, acético, propiónico e butírico (g/kg MS), o pH, a densidade (kg/m³ MS) e a temperatura (°C).

Sendo a temperatura um método simples e prático para a avaliação da estabilidade dos alimentos, debruçar-me-ei apenas sobre este método. Um dos factores que mais influencia o crescimento microbiano e que pode culminar na deteriorização e perda do valor nutricional dos alimentos, é a temperatura destes (Jonh, 1989). Por exemplo, no caso das silagens, temperaturas à volta dos 43 a 54 °C indicam que está a ocorrer ou ocorreu contacto com ar conduzindo à oxidação do alimento por parte dos microrganismos aeróbios (Kung, 2011). Nestas situações convém remover o ar o mais depressa possível, de forma a parar o processo de oxidação. Se as temperaturas se mantiverem nesta ordem de valores podem conduzir à desnaturação das proteínas. Além de que temperaturas (Gráfico 4) na ordem

destes valores também são prejudiciais para as bactérias que produzem ácido láctico que é um dos responsáveis pela conservação da silagem. Após estabilização, os silos devem apresentar uma temperatura entre os 21 e os 29 °C (Kung, 2011).

Um estudo realizado por Koehler *et al*, (2013) em 22 de silagens de erva e 16 de silagens de milho, constatou que a variação foi de 3 – 37 °C e 2 – 23 °C, respectivamente.

Gráfico 4 - Fases da fermentação normal do silo de milho. Adaptado de (Jones, Heinrichs, Roth, & Ishler, 2004)



No que diz respeito a outras matérias-primas verifica-se a mesma situação, ou seja, sempre que há um aumento da temperatura significa que está a ocorrer, quer fermentação, quer oxidação e desta forma estão a ocorrer perdas. Por exemplo, um subproduto muito utilizado na alimentação de vacas de leite é a massa de cerveja (dreche). Sendo este um alimento com bastante humidade é um produto bastante perecível. Assim, só um bom armazenamento (Figura 3) possibilita uma diminuição de perdas, sendo que só ao final de 3 semanas, após boa compactação e cobertura com plástico, ocorre estabilização e estará pronto a ser utilizado (Boessinger, Hug, & Wyss, 2005).

O mesmo acontecerá com a TMR, ou seja, a mesma deve manter a estabilidade e frescura durante todo o tempo em que estará disponível para os animais. Assim um bom armazenamento e conservação dos alimentos são uma forma de aumentar a digestibilidade, eficiência e produtividade da exploração (Barmore, 2002; Hutjens, 1999).

Figura 3 - Ilustração sobre a forma de como conservar a massa de cerveja.



5.7.4. Doenças da produção

5.7.4.1. Fígado gordo

A mobilização de ácidos gordos a partir do tecido adiposo, para suportar as necessidades energéticas da lactação, é um fenómeno biológico que ocorre em muitos mamíferos e é em parte regulado pelo sistema endócrino. Contudo, o aumento da mobilização de ácidos gordos não esterificados (AGNE) conduz à acumulação de triglicerídeos nos hepatócitos comprometendo a função hepática. Este acontecimento é particularmente significativo em vacas, dado que, 85% do metabolismo da glucose deriva do fígado. Assim, o comprometimento deste órgão pode predispor a outros problemas, uma vez que, também desempenha um papel importante na regulação da ingestão de alimentos, fertilidade e imunidade (Mulligan & Doherty, 2008).

Recentemente verificou-se que o aumento da densidade energética das dietas durante o período de transição, com HCFF e/ou gordura, não contribui para a diminuição da acumulação de triglicerídeos no fígado (Grummer, 2008). Desta forma considera-se que é mais benéfico manter uma dieta baixa em energia e alta em fibra durante todo o período seco (Dann, Morin, Bollero, Murphy, & Drackley, 2005). De modo a controlar este fenómeno, parece que alguns suplementos disponíveis, como é o caso do propilenoglicol e a colina, desempenham um papel importante, além de que têm uma acção sinérgica. Isto porque, segundo Grummer, (2008) o propilenoglicol previne a lipólise e a colina facilita a exportação de ácidos gordos do fígado através de *very low density lipoproteins* (VLDL). Tem-se verificado que alguns aspectos de manejo (alterações de grupos, alterações da

dieta, etc) são factores potencialmente mais importantes do que outros (nutrição) no desenvolvimento do fígado gordo. Assim, uma estratégia para diminuir a gravidade do BEN e acumulação de triglicérides nos hepatócitos é reduzir ou eliminar o período seco. No entanto, esta última situação irá comprometer a qualidade do colostro. Enquanto a nutrição e o manejo durante o período de transição são obviamente relevantes para o desenvolvimento do fígado gordo, a alimentação no final de lactação e o histórico do *status* energético também o são. Isto porque se a vaca está com condição corporal (CC) elevada à secagem irá mobilizar mais tecido adiposo no pré-parto do que uma vaca com baixa CC (Kim & Suh, 2003). Todas estas situações podem predispor a outro tipo de doenças, como é o caso da cetose subclínica e da acidose ruminal subaguda.

5.7.4.2. Cetose

A cetose é considerada a doença metabólica com maior importância nas vacas de leite, superando a acidose ruminal e a hipocalcémia clínica (Oetzel, 2007). Esta doença está muitas vezes associada a vacas altas produtoras com um inadequado aporte de energia. No entanto, vacas baixas produtoras também podem padecer deste processo patológico. A manutenção de uma concentração adequada de glucose no sangue é crítica para a regulação do metabolismo energético (Radostits, Gay, Hinchcliff, & Constable, 2007), sendo que os principais precursores da gliconeogénese nos ruminantes são o propionato, os AA e, em menor grau, o lactato e o glicerol (Radostits *et al.*, 2007).

Na maioria dos casos a patofisiologia da cetose está relacionada com lipólise, excessiva libertação de ácidos gordos livres não esterificados, inadequado metabolismo hepático, aumento do armazenamento de ácidos gordos sob a forma de triglicéridos no fígado e, em algumas vacas, diminuição da secreção de VLDLs (George, Divers, Ducharme, & Welcome, 2008). Esta situação resulta em hiperacetonémia, que se caracteriza na acumulação de corpos cetónicos, como é o caso do β HB, acetoacetato e cetonas (Itle, Huzzey, Weary, & von Keyserlingk, 2015).

Consoante a fase da lactação e a causa da cetose podemos classificá-la em dois tipos: primária e secundária. A cetose primária resulta de uma inadequada ingestão de energia (insuficiente IMS/baixa densidade energética/consumo excessivo de alimentos cetogénicos) para suportar as necessidades em glucose para a lactogénese de uma vaca alta produtora. Este tipo é mais frequente no início da lactação. Se por outro lado, a causa da diminuição da IMS resulta de uma doença (e.g. DA à esquerda) ou incapacidade da vaca se alimentar convenientemente, estamos perante um caso de cetose secundária (Radostits *et al.*, 2007).

No que compete à distinção entre cetose subclínica e clínica, esta última, normalmente manifesta-se pela diminuição acentuada do apetite, da CC e da produção de leite. A distinção das duas é um pouco arbitrária e normalmente complementada com a realização de testes específicos para detecção e quantificação de corpos cetónicos (Marutsova, Binev, & Marutsov, 2015).

O teste *gold standard* para diagnóstico de cetose é a quantificação do β -hidroxibutirato sanguíneo. Por norma, consideramos um caso de cetose clínica quando a vaca apresenta níveis de β HB no sangue superiores a 2,9 mmol/l (Oetzel, 2007). A prevalência de cetose clínica nas explorações leiteiras tende a ser baixa (<4%) (Suthar, Raposo, Deniz, & Heuwieser, 2013; Stengärde *et al*, 2008) comparativamente à CSC (12% - 60%) (Duffield, 2000; Oetzel, 2013) .

5.7.4.3. Cetose subclínica

A CSC é uma doença metabólica, com baixa heritabilidade (Duffield, 2000), caracterizada por um aumento da circulação de β HB no sangue (1,0 mmol - 2,9mmol/L) na ausência de sinais clínicos (Suthar *et al*, 2013). Convém referir que, em relação ao *cut off* de β HB no sangue, ainda não há um consenso quanto ao seu valor.

5.7.4.3.1. Impacto económico

Em termos económicos, um caso de CSC custa em média $\pm 259,58\text{€}$ por vaca afectada (McArt, Nydam, & Overton, 2015). Por outro lado, segundo Geishauser, Leslie, Kelton, & Duffield, (2001) o custo de um caso de CSC é de $\pm 70,01\text{€}$.

5.7.4.3.2. Consequências

A CSC está muitas vezes associada à redução da produção de leite ao longo da lactação, diminuição da eficiência reprodutiva e a um aumento dos deslocamentos do abomaso (DA). Sabe-se que a CSC conduz a uma diminuição da produção leiteira (300-450 Kg/lactação) (Duffield, 2000; Geishauser *et al*, 2001; Oetzel, 2013), redução da eficiência reprodutiva (Geishauser *et al*, 2001; Todd Duffield, 2000; Oetzel, 2013; Suthar *et al*, 2013), aumento dos dias em aberto (Walsh *et al*, 2007), aumento do número de deslocamentos do abomaso (DA) (Duffield, 2000; Oetzel, 2013; Suthar *et al*, 2013), aumento dos casos de metrites (Oetzel, 2013; Suthar *et al*, 2013), e aumento da cetose clínica e do refugo precoce (Oetzel, 2013).

Desta forma depreende-se que a monitorização desta doença de forma continua e controlada é essencial para a rentabilidade e eficiência da exploração.

5.7.4.3.3. Epidemiologia

Incidência

A incidência é o número de novos casos CSC (β HB no sangue entre 1,2 e 2,9 mmol/l) que ocorrem durante um período de risco (início de lactação) dividido pelo número de vacas que completam esse período (Oetzel, 2015).

A incidência média de CSC tende a ser bastante elevada, embora com grande variabilidade entre explorações (12% - 60%) (Duffield, 2000; Oetzel, 2013). O período de maior risco encontra-se entre a 1ª e 2ª semana pós-parto (Duffield, 2000; Suthar *et al*, 2013; Geishauser *et al*, 2001). No entanto, o período de maior incidência ocorre por volta do 5º dia pós-parto (McArt, Nydam, & Oetzel, 2012).

Prevalência

A prevalência é uma fotografia da exploração num determinado momento, ou seja, é a proporção de vacas com concentrações de β HB no sangue entre 1,2 e 2,9 mmol/l, no momento da análise. O pico de prevalência, de igual forma que o pico de incidência, ocorre no dia 5 pós-parto (McArt *et al*, 2012) sendo que a prevalência média nas explorações pode variar 11 a 29% (Geishauser *et al*, 2001)

5.7.4.3.4. Método de diagnóstico

Realiza-se através da determinação quantitativa ou qualitativa do β -Hidroxibutirato no sangue e do leite (Carrier, Stewart, Godden, Fetrow, & Rapnicki, 2004) respectivamente. Além disso, pode-se recorrer ainda ao uso de tiras de urina para a detecção do acetoacetato. O *cut off point* para determinarmos se é um caso de CSC ainda não está bem definido, mas varia entre 1,0 a 1,4 mmol/l β HB no sangue (Duffield, 2000; Geishauser *et al*, 2001; Duffield, Lissemore, McBride, & Leslie, 2009; Oetzel, 2013; Dohoo & Martin, 1984; Walsh *et al*, 2007; Suthar *et al*, 2013). No entanto, muitos autores consideram estar perante um caso de CSC quando os valores de β HB no sangue se encontram entre 1,2 e 2,9 mmol/l (Oetzel, 2013; Suthar *et al*, 2013).

5.7.4.3.5. Prevenção/Tratamento

O uso de monensina em forma de bolos de libertação lenta, há muito que é usado no Canadá e EUA (Duffield *et al*, 1998). Ao contrário, na Europa o seu uso só voltou a ser permitido em 2013 (EMA, 2013), após um longo período de proibição, e apenas como especialidade farmacêutica para utilização em casos de risco. A monensina conduz a um aumento da proporção de ácido propiónico em relação aos ácidos acético e butírico, levando assim a uma diminuição da mobilização de reservas corporais e com isto diminui o risco de CSC (Conti, Salles, & Schalch, 2008). Estes bolos são normalmente aplicados

três semanas antes do parto, e têm reduzido a prevalência, a incidência e a duração dos casos de CSC (Duffield *et al.*, 1998; Duffield *et al.*, 2003). Contudo, outros estudos advogam que o uso de monensina não afecta os valores de glucose e AGNE no sangue (Plaizier *et al.*, 2005). Sendo que a presença de AGNE em excesso é um factor de risco para CSC.

O propilenoglicol desde há muito tempo que é utilizado para o tratamento de cetose clínica, dado o efeito anticetogénico que detém. Isto é, aumenta a concentração de glucose no plasma, através da diminuição da procura dos tecidos periféricos pela glucose. Subsequentemente baixa os níveis de triglicéridos no fígado e de AGNE, resultando assim na diminuição de β HB no sangue (Kristensen & Raun, 2007; Chung, Martinez, Brown, Cassidy, & Varga, 2009). Segundo McArt, Nydam, Ospina, & Oetzel, (2011) o propilenoglicol é igualmente eficaz na resolução de CSC e inclusive pode conduzir a aumentos de produções em vacas diagnosticadas com CSC.

5.7.4.4. Acidose ruminal subaguda

A designação ARSA tem sofrido algumas alterações ao longo dos anos, mas o termo mais usual é “acidose ruminal subaguda” (Garrett *et al.*, 1999), apesar de nem sempre ser o mais adequado, dado que, por vezes temos consequências clinicamente detectáveis. É uma doença de difícil diagnóstico ao exame clínico, isto porque, não há sinais patognomónicos (Enemark, 2008), além de serem normalmente subtis e também bastante tardios, isto é, podem manifestar-se muito depois dos episódios de ARSA.

Quando pH ruminal ultrapassa o *nadir* considerado fisiológico, podemos estar perante um caso de ARSA, uma vez que é o valor do pH ruminal o indicador de ARSA (Kleen *et al.*, 2003; Oetzel, 2003a; Duffield *et al.*, 2004). O valor de pH abaixo do qual se pode considerar existir ARSA, varia muito entre autores. Por exemplo, para alguns autores, quando temos o pH ruminal abaixo de 6,2, podemos ponderar a presença de ARSA, uma vez que abaixo desse valor, a digestibilidade da fibra *in vitro* pelos microrganismos diminui (Calsamiglia *et al.*, 2002; Grant & Mertens, 1992; Grant, 1994). A ARSA é caracterizada por casos repetidos de depressão do pH ruminal, que frequentemente resultam da ingestão de grandes quantidades de HCFF, os quais levam a um aumento dos AGV, essencialmente propionato, no rúmen (Owens, Secrist, Hill, & Gill, 1998). Como o rúmen não está preparado para absorver AGV produzidos em excesso ocorre uma descida do pH ruminal abaixo dos parâmetros desejáveis (Kleen *et al.*, 2003).

Este processo patológico é uma doença digestiva bastante comum em vacarias de leite, mesmo com uma boa gestão técnica/económica (Enemark, 2008).

5.7.4.4.1. Impacto económico

No que respeita aos prejuízos, os produtores na maioria das vezes somente consideram as perdas relacionadas com o tratamento em si. Desta forma, inúmeras vezes são menosprezadas as perdas devido a doenças subclínicas que culminam em diminuição da performance reprodutiva, lesões podais, alteração da saúde do úbere, entre outras (Mulligan *et al.*, 2006). Portanto, uma análise cuidada tem um grande potencial em ajudar o produtor a aumentar a rentabilidade e garantir o alcance dos objectivos propostos. Além disso, permitirá facultar uma melhor transparência, confiança e aceitabilidade nas questões de bem-estar e saúde animal (Mulligan *et al.*, 2006). Não obstante, a ARSA é um problema definitivamente grave para a indústria leiteira, dado que conduz a perdas de eficiência produtiva, aumentos dos custos de tratamento dos animais doentes e redução da longevidade dos mesmos (Nocek, 1997).

Segundo Enemark, (2008) citando Stone, (1999) as perdas relacionadas com ARSA variam entre os \$448 e os \$897 milhões de euros anualmente. Sendo que, o custo por vaca está na ordem de 1 € diário em explorações T⁺positivas. Estas perdas resultam maioritariamente da redução da produção de leite e da diminuição da eficiência da mesma, bem como, do refugo precoce e mortes resultantes de sequelas da doença (Enemark, 2008).

Um estudo realizado numa exploração no estado de Nova Iorque verificou que a ARSA reduz a produção de leite em 2,7 kg/dia, a gordura em 0,3% e a proteína em 0,12% pontos percentuais (Stone, 1999 citado por Plaizier, Krause, Gozho, & McBride, 2008). Convertendo estes valores em perdas económicas, as mesmas podem atingir os \$356€ por vaca numa lactação (não estão contabilizados os custos do aumento de refugo e dos tratamentos veterinários).

5.7.4.4.2. Etiologia e Fisiopatologia

O pH ruminal é determinado pelo equilíbrio entre a produção de ácido e a sua eliminação do rúmen (neutralização ou absorção). Contudo, esta simples premissa nem sempre ocorre, e por vezes temos acumulação de ácidos que conduzem a descidas de pH ruminal que culminam em ARSA. As depressões de pH ruminal podem estar relacionadas com vários factores, nomeadamente: tipo de forragem, concentrados e o seu processamento, valor acidogénico dos alimentos, manejo da manjedoura, tipo de tampões inorgânicos incluídos na dieta, transições alimentares, tipo de misturador, hierarquia e a variabilidade individual de cada animal (Mertens, 1997; Oetzel, 2003a; Kleen *et al.*, 2003; Rustomo *et al.*, 2006)

Contudo, o consumo HCFF é o factor mais frequentemente associado a casos de ARSA em vacas leiteiras (Oetzel, 2010). Esta situação ocorre porque os cereais são geralmente

T⁺ - Quando 25% ou mais vacas analisadas têm pH ruminal abaixo de um determinado valor

‡ US\$1 = aproximadamente 0,89€, a 30 de Junho de 2015

mais digestíveis do que as forragens, conduzindo a um aumento da produção de AGV no rúmen e consequente à diminuição do pH ruminal (National Research Council, 2001). Desta forma a alimentação com grande proporção de silagem de milho nas dietas de vacas leiteiras torna-as mais susceptíveis a desenvolverem ARSA em comparação com dietas contendo mais feno ou feno-silagem. Isto ocorre porque a silagem de milho, por si só possui uma grande quantidade de grãos e normalmente não contribui com partículas suficientemente compridas para a TMR (Oetzel, 2010).

Relativamente ao processamento e tipo de cereais, os que são moídos, floculados, extrudidos, e/ou mais húmidos (e.g. *pastone*) fermentam mais rápida e completamente no rúmen do que cereais não processados ou secos, mesmo que a sua composição química seja idêntica. Do mesmo modo, o amido de trigo ou de cevada é mais rápida e completamente fermentado no rúmen do que o amido de milho. Portanto o tipo, o tamanho e a humidade das partículas dos cereais influenciam a taxa de fermentação no rúmen e o risco de desenvolver ARSA (Oetzel, 2010).

Dado que nem todos os alimentos têm a mesma capacidade de despoletar um caso de ARSA, Rustomo *et al*, (2006) avaliou *in vitro* a capacidade acidogénica dos mesmos. Perante isto verificou que a capacidade acidogénica dos alimentos era bastante elevada para os alimentos ricos em HCFF, seguido das forragens e por último apareciam os alimentos ricos em proteína. Situação esta, que vem corroborar o papel dos cereais (níveis altos de HCFF) no desenvolvimento de ARSA.

Além destes aspectos devemos ter em conta que os ruminantes têm um sistema altamente desenvolvido para tamponamento de ácidos orgânicos produzidos pela fermentação ruminal - tamponamento endógeno. Além disso, na maioria dos casos é lhes facultado agentes tampões na dieta alimentar (Oetzel, 2010). O tamponamento dietético é a capacidade tampão intrínseca da dieta, isto é a diferença catião-anião (DCAD). Dietas altas em sódio e potássio, relativamente a cloro e enxofre têm valores altos de DCAD, que tende a suportar altos pHs ruminais, e a aumentar a IMS e a produção de leite. As dietas para vacas em lactação devem conter à volta de + 230 a + 330 mEq/kg DCAD (Chan, West, Bernard, & Fernandez, 2005). Formular dietas com altas concentrações de DCAD tipicamente requerem a adição de tampões como bicarbonato de sódio e carbonato de potássio. Por exemplo, as silagens de luzerna tendem a ter DCAD mais altos em relação as silagens de milho. Já os alimentos concentrados tendem a ter DCAD baixos ou negativos, os quais estão correlacionados com altos potenciais de causar acidose ruminal subaguda por causa do seu grande conteúdo em HCFF e à fraca capacidade tampão (Oetzel, 2010).

O tamponamento endógeno, resulta de tampões produzidos pela vaca e secretados para o rúmen via saliva. Nesta situação é a quantidade de peFDN na dieta que determina a

extensão de tampão produzido pelas glândulas salivares. Não obstante, alimentos grosseiros e fibrosos, além do estímulo para a ruminação contribuem para manter a *mat layer* (Oetzel, 2010). Dietas com menos de 7% de partículas com tamanhos $\geq 19\text{mm}$, predis põem as vacas a um maior risco de desenvolverem ARSA, particularmente se as dietas estão no limite do conteúdo apropriado em FDN (Grant *et al.*, 1990). Ou seja, o aumento do conteúdo em FDN da dieta pode compensar o pequeno comprimento da partícula (Beauchemin, Farr, Rode, & Schaalje, 1994). Dietas com PSPS19 acima dos 15, podem paradoxalmente aumentar o risco de ARSA. Isto acontece porque, quando as partículas longas não são palatáveis e facilmente separáveis do resto dos componentes da dieta, os animais estão mais propensos a escolher e separar os alimentos, levando a que consumam uma maior quantidade HCFF (Calberry, Plaizier, Einarson, & McBride, 2003; Oetzel, 2010). Neste cenário as vacas hierarquicamente dominantes são particularmente susceptíveis a ARSA, uma vez que, são mais propensas a consumir as partículas mais finas de TMR logo após a distribuição da comida. Por outro lado as vacas com *status* hierárquico mais baixo consomem dietas mais fibrosas. Assim as vacas nos extremos hierárquicos de um grupo serão as mais magras e com piores *performances*. Desta forma, quando sobrelotamos os parques parece que o risco de escolha e separação de alimentos aumenta nas dietas em regime de TMR (Hosseinkhani *et al.*, 2008), bem como, a competição que ocorre entre os animais de diferente hierarquia, especialmente entre múltiparas e primíparas (Huzzey, DeVries, Valois, & von Keyserlingk, 2006). A causa mais comum de selecção de alimento em dietas TMR é a inclusão de palha/feno enfardado, grosseiro e não processado. No entanto, esta situação poderia ser minimizada pela utilização de misturadores de alimentos, porém segundo Oetzel, (2010) nem todos os misturadores estão capacitados para diminuir o tamanho da partícula de forma efectiva (excepto para alguns misturadores verticais). Mesmo sabendo que a ingestão de partículas de tamanhos longos (Allen, 1997) é um dos factores que ajuda na neutralização da acidez ruminal, dado que promove uma adequada ruminação e produção de saliva (Mertens, 1997), quando demasiadamente comprida ou pouco processada pode conduzir a um risco maior de selecção e consequentemente de ARSA. Assim deduz-se que o risco de ARSA pode em alguns casos ser reduzido pela remoção de feno ou palha da TMR (Oetzel, 2010). Mesmo em regime de pastagem as vacas leiteiras estão em risco de sofrer de ARSA (Bramley *et al.*, 2008; O'Grady *et al.*, 2008), dado que as pastagens podem conter altas quantidades de HCFF e baixa quantidade de peFDN o que condiciona todo o processo de mastigação e salivacão (Mertens, 1997; Yang & Beauchemin, 2006).

As vacas no início de lactação são em teoria mais susceptíveis a ARSA dada a fraca adaptação ruminal às dietas com alta quantidade de HCFF. Dois aspectos chave devem ter-se em conta, adaptação da microbiota (particularmente as bactérias que utilizam o

lactato, que normalmente crescem mais lentamente do que aquelas que produzem lactato) e o crescimento das papilas ruminais (papilas longas promovem uma melhor absorção de AGV e assim evita uma diminuição do pH) (Dirksen *et al.*, (1985) citado por Oetzel, (2010)). O conhecimento dos princípios de adaptação ruminal sugere que o aumento do consumo de HCFF no final do período seco deve diminuir o risco de ARSA no início de lactação. Contudo segundo Andersen, Sehested, & Ingvarsen, (1999) esse aumento não tem efeitos benéficos no pH ruminal no início de lactação ou na IMS. Os impactos práticos da adaptação ruminal podem ser pequenos ou mesmo desprezíveis nas explorações leiteiras que alimentam as vacas depois do parto com TMR (Oetzel, 2010).

A depuração dos AGV a partir do rúmen é afectada pelo tamanho e densidade das papilas ruminais. Estas são estruturas que influenciam na capacidade e no tempo de absorção dos AGV (Reynolds, Dürst, Lupoli, Humphries, & Beever, 2004). Além disso, a absorção dos AGV pode sofrer uma diminuição decorrente da inflamação ou paraqueratose da parede do rúmen (resultante de episódios prévios de ARSA, ou outro tipo de doença) resultante do baixo pH ruminal, predispondo ainda mais para o desenvolvimento de ARSA.

A distribuição de alimento e o acesso ao mesmo são muitas vezes esquecidos como fatores de risco para ARSA. Os bovinos de leite são normalmente alimentados por consumo *ad libitum* (tipicamente com umas sobras diárias de 2 a 5%), a fim de maximizar o potencial de consumo de matéria seca e produção de leite. No entanto, limitar a ingestão em vacas de leite com alto risco para ARSA seria, em teoria, reduzir o risco de excesso de consumo periódico e de ARSA, conduzindo também a uma melhoria da eficiência alimentar. Apesar de esta abordagem ter sucesso em feedlots (Oetzel, 2010), no caso das vacas leiteiras os grupos são muito mais dinâmicos o que torna o manejo das manjedouras complicado, assim como evitar que as vacas fiquem sem alimentação palatável mais do que 4 horas por dia (Oetzel, 2010). Isso pode ser feito, mas apenas com uma manjedoura que tenha espaço adequado e excelente gestão e manejo do alimento. A alimentação *ad libitum* com sobras diárias de 2 a 5% talvez seja a melhor opção para a maioria dos rebanhos leiteiros. Isso seria especialmente aplicável aos grupos de vacas no pré e pós-parto, porque eles têm uma alta rotatividade e porque mudam rapidamente a IMS durante estes períodos de tempo (Oetzel, 2010).

O tamanho da refeição é também um aspecto importante do manejo nutricional de ARSA. As vacas são muitas vezes capazes de auto-regular o seu pH ruminal se tiveram acesso contínuo e previsível à TMR. No entanto, até mesmo períodos modestos de restrição alimentar podem levar a que as vacas no período seguinte ingiram grande quantidade de alimento de uma só vez. Portanto, as boas práticas de gestão da manjedoura são um método de prevenção crítico de ARSA, mesmo quando o FDN, a granulometria das partículas, e o tratamento de cereais são ideais. Dietas mais forrageiras têm a vantagem

de diminuir o tamanho da refeição e aumentar a frequência das refeições (Yang & Beauchemin, 2009).

Além dos factores apontados existem outros como é o caso dos erros na mistura da dieta, diferenças entre a matéria seca assumida e a real e o excesso de tempo de mistura da TMR (Kleen *et al*, 2003; Oetzel, 2003a).

5.7.4.4.3. Consequências

A ARSA pode ser um factor predisponente para outros processos patológicos como é o caso dos abscessos hepáticos, SDG, síndrome da veia cava caudal, DA (Mulligan & Doherty, 2008), laminites (Enemark *et al.*, 2002), úlceras, diminuição da IMS, problemas reprodutivos, timpanismo ruminal, ruminites, maiores taxas de refugo (Enemark, 2008), imunossupressão (Kleen *et al.*, 2003) e inflamação (Plaizier *et al.*, 2008).

Dos processos patológicos acima enumerados, o que mais se relaciona com a ARSA é a ruminite. Esta inflamação na parede do rúmen é um processo frequente da acidose ruminal subaguda. Não obstante, a sua patogenia não está muito bem esclarecida, mas sabe-se que o aumento da produção de AGV, nomeadamente, butirato e propionato e, em casos mais graves, de ácido láctico conduzem a flutuações do pH do fluído ruminal, que podem predispor a ruminite. Muitas vezes, como consequência da ruminite, ocorre paraqueratose, que conduz a um espessamento córneo da mucosa do rúmen. Esta situação posteriormente pode dificultar a absorção de AGV, sendo que as lesões decorrentes da ruminite estão muitas vezes implicadas noutros processos acima referidos (Enemark, 2008).

A diminuição da IMS tem sido apontada como um sinal clínico para diagnóstico de ARSA (Kleen *et al*, 2003; Oetzel, 2003b; Krajcarski-Hunt *et al*, 2002). O consumo de cereais pode induzir ARSA e reduzir a IMS em vitelos de engorda e de vacas em lactação (Gozho *et al*, 2005; Fairfield *et al*, 2007). No entanto, podemos ter uma depressão similar no pH ruminal, quando trocamos um feno de luzerna por *pellets* de luzerna, mas sem uma redução da IMS (Khafipour, Krause, & Plaizier, 2009). A ARSA induzida por cereais reduz a digestibilidade *in situ* da fibra devido ao aumento da acidez no rúmen (Krajcarski-Hunt *et al.*, 2002). Segundo Plaizier, Keunen, Walton, Duffield, & McBride, (2001) a ARSA induzida por cereais reduz 24 a 48 h *in situ* a degradabilidade do FDN da mistura e do feno de 19,6% e 21,8, respectivamente. Esta redução da degradabilidade devido à ARSA ocorre por diminuição do número de bactérias que degradam a fibra, dado que estas, normalmente não toleram pH um menor que 6,0. Assim, quando o pH se encontra abaixo desse valor ocorre uma diminuição do número dessas bactérias no rúmen e subsequentemente reduz-se a digestão da fibra (Shi & Weimer, 1992). A disparidade entre os efeitos da ARSA

induzida por cereais e a ARSA induzida por *pellets* de luzerna na IMS, sugere que outros factores, além da digestão da fibra, AGV do rúmen e a osmolaridade, desempenhem um papel muito importante neste processo (Plaizier *et al.*, 2008).

Estudos demonstram que a ARSA induzida por cereais causa um aumento das proteínas de fase aguda no sangue o qual é um indicador de inflamação (Gozho *et al.*, 2005; Gozho, Krause, & Plaizier, 2007). Assim a inflamação resultante da ARSA induzida por cereais pode contribuir para a depressão da IMS (Andersen *et al.*, 2000) citado por (Plaizier *et al.*, 2008). Este aspecto é reforçado pelos resultados observados por Khafipour *et al.*, (2009) em que a ARSA induzida pela troca de feno de luzerna por *pellets* de luzerna não induz inflamação e também não causa depressão na IMS. Além disso, a redução da digestibilidade causada pela ARSA reduz o conteúdo de energia bruta da dieta e pode ter impacto na IMS, na produção, saúde do rúmen e reprodução. Portanto, segundo Nordlund *et al.*, (1995) citado por Oetzel, (2010), explorações com alta prevalência de ARSA podem ter animais com baixa CC apesar de aparentemente terem densidades energéticas adequadas. Isto pode ser justificado pelos efeitos secundários da ARSA, que concorrem para a redução da IMS (ex: claudicação, abscessos hepáticos ou abscessos renais) ou pelo custo energético das respostas inflamatórias de ruminantes e outras complicações de ARSA (Oetzel, 2010). Contudo, outros problemas nutricionais e doenças podem também causar baixa CC apesar da adequada densidade energética da dieta.

A ARSA está associada a abscessos hepáticos (Nocek, 1997; Kleen *et al.*, 2003; Oetzel, 2003b). Normalmente causados pela translocação de bactérias do rúmen como *Fusobacterium necrophorum* e *Trueperella pyogenes* para o sangue portal, como resultado da diminuição da barreira da mucosa do rúmen (Nocek, 1997; Oetzel, 2003b). Estas bactérias podem difundir-se do fígado para outros órgãos como coração, pulmões e rins (Nocek, 1997; Kleen *et al.*, 2003). Esta redução da barreira da mucosa ruminal está associada a ruminite e lesões na mucosa ruminal devido ao baixo pH ruminal que ocorre durante a ARSA (Nocek, 1997; Kleen *et al.*, 2003).

Ocasionalmente em explorações com altas prevalências de ARSA podemos observar casos de hemoptise. Estes sinais podem ser decorrentes da síndrome da veia cava caudal, resultantes de êmbolos sépticos provenientes de abscessos hepáticos cujas bactérias atravessam a parede do rúmen aquando de episódios de ARSA. Estes êmbolos de origem hepática eventualmente podem causar aneurismas em artérias do pulmão e, conseqüentemente, hemorragias pulmonares. Contudo, explorações com ARSA não têm necessariamente muitos casos de vacas com hemoptise (Oetzel, 2010).

Enemark, (2008) descreve uma grande associação fisiológica entre ARSA e a imunossupressão. A acidose metabólica que pode advir da ARSA, desencadeia uma redução da secreção de glucose insulina-dependente, e desta forma culmina com um

aumento na secreção de cortisol e consequentemente redução da capacidade de fagocitose e de diapedese dos neutrófilos.

A amilóide sérica A (SAA) e a haptoglobulina (Hp) são as proteínas de fase aguda mais reactivas nas vacas, as suas concentrações no soro sanguíneo são usadas como marcadores inflamatórios (Alsemgeest *et al.*, 1994). As concentrações destas proteínas no soro sanguíneo aumentam quando doenças como mastites (Grönlund, Sandgren, & Waller, 2005) e metrites (Tothova, Nagy, & Kovac, 2014) ocorrem. A ARSA induzida por dietas ricas em cereais, também aumenta a SAA em vacas de leite (Gozho *et al.*, 2007).

Em geral, uma excessiva acidez ruminal resulta na redução do número de bactérias celulolíticas, predominando os cocos e os bastonetes gram positivos, embora também ocorra um aumento das gram negativas sob algumas condições (Goad, Goad, & Nagaraja, 1997). Um componente da parede das bactérias gram negativas, que é libertado no rúmen quando há proliferação e posterior morte destas bactérias, é o lipopolissacarídeo (LPS) (Wells & Russell, 1996). Estudos sobre a influência da ARSA na presença de LPS livre no rúmen, sugerem que a depressão no pH ruminal aumenta a lise das bactérias gram negativas, mas que este aumento depende do tipo de dieta e da população de bactérias antes da implementação da ARSA (Gozho *et al.*, 2007; Khafipour *et al.*, 2009).

Contudo, questiona-se se será o LPS o primeiro indutor de inflamação, porque aparentemente existem outros factores virulentos. No caso da *E.coli* bem como de outros membros da mesma família, há um leque variado de factores que têm um potencial de causar inflamação designadamente, adesinas, fimbrias, toxinas termoestáveis e termolábeis e peptídeos inflamatórios. Estes, de igual forma que o LPS, podem estar envolvidos no desencadeamento de processos inflamatórios em vacas leiteiras conforme afirma Gyles, (2007).

Quando estamos perante uma exploração com alta prevalência em claudicações, podemos estar perante uma situação de ARSA (Nordlund *et al.*, 2004). Contudo, não nos podemos abster de outros factores que indubitavelmente influenciam o aparecimento da claudicação, nomeadamente a exposição ao cimento, o tipo de piso do pavilhão, o trajecto percorrido pelos animais, espaço de manjedoura e o seu desenho, disposição dos estábulos, sobrelotação, *stress* térmico, bem como comportamento animal, já que todos estes factores podem influenciar a prevalência e gravidade das claudicações (Cook, Nordlund, & Oetzel, 2004).

A laminite (pododermatite asséptica difusa) é definida como a inflamação das camadas internas da derme da extremidade podal (Nocek, 1997). É um processo patológico típico de vacas em início de lactação e touros em *feedlots*. Desta forma pressupõe-se que alimentando os animais com dietas ricas em concentrados facilmente fermentescíveis resultaria em laminite (Nocek, 1997). No entanto, o verdadeiro mecanismo pelo qual ocorre

laminite não esta completamente esclarecido, mas pensa-se que será multifactorial (Nocek, 1997). Nocek, (1997) propôs que a depressão do pH ruminal despoletava a libertação de substancias vasoactivas, como a histamina e a endotoxina do lipopolissacarídeo (LPS) de origem bacteriana que conduzia a lesão dos capilares das lamelas e consequentemente causavam hemorragias, inflamação e claudicação. Contudo, Gozho *et al*, (2007) demonstrou que a ARSA induzida por cereais aumentava o LPS livre no rúmen, mas não no sangue periférico, o que desta forma contradiz a hipótese de Nocek (1997). No entanto, a correlação entre ARSA e a laminite continua a ser aceite (Enemark *et al*, 2002)

Há muito que se assume que a ARSA causa depressão na gordura do leite (Nocek, 1997; Kleen *et al*, 2003; Oetzel, 2003b). No entanto, Keunen *et al*, (2002) e Gozho *et al*, (2007) não observaram qualquer alteração no TB em vacas que sofriam de ARSA induzida por cereais. Tem sido reportado que as respostas inconsistentes na variação da gordura aos surtos de ARSA podem dever-se à duração desta última. Isto é, quanto menor for a duração do surto menor a probabilidade de causar uma descida dos teores de gordura do leite (Krause & Oetzel, 2005).

A redução na consistência das fezes tem sido associada a ARSA nas explorações de vacas leiteiras (Nocek, 1997; Kleen *et al*, 2003; Oetzel, 2003b). A fezes das vacas com ARSA podem parecer mais brilhantes, mais líquidas, com cheiro agridoce, mais amareladas e conter partículas não digeridas de alimentos, em comparação com as fezes das vacas sem ARSA (Kleen *et al*, 2003; Oetzel, 2010). Diarreia e fezes espumosas sugerem fermentação extensa no intestino posterior, que pode estar associada a ARSA (Nordlund *et al*, 2004). Hall, (2002) citado por Plaizier *et al*, (2008) afirma que a fermentação no intestino grosso conduz ao aumento da acidez do seu conteúdo, que pode levar à descamação das células epiteliais desse segmento do tubo digestivo.

Explorações com alta prevalência de ARSA apresentam tipicamente altas taxas de refugo em todo o ciclo de lactação, em comparação a outras causas que são responsáveis por refugos no início e final de lactação. Não obstante, a combinação de outros problemas podem apresentar padrões de refugo similares aos que se observam na ARSA (Oetzel, 2010).

5.7.4.4. Epidemiologia

Segundo os dados da literatura existem dois grupos de risco em relação à ARSA nas explorações leiteiras, as vacas no início de lactação, e as vacas no pico da IMS. O primeiro enquadra as vacas entre os 3 e os 20 DEL (Nordlund, 2003a) em que normalmente são administradas dietas altamente energéticas conduzindo assim a uma descida do pH ruminal resultante da pobre adaptação da microbiota ruminal e da reduzida capacidade de

absorção das papilas ruminais (Mulligan & Doherty, 2008). Esta situação ocorre porque a capacidade de absorção de AGV, devido à redução do comprimento e da densidade das papilas durante o período seco, pode diminuir até 50%. Todavia, até que a função seja novamente restabelecida pode demorar algumas semanas depois da introdução da nova dieta. Reynolds, Dürst, Lupoli, Humphries, & Beever, (2004) demonstraram que, a massa de papilas ruminais é maior 10 a 22 dias depois do parto, comparado com as papilas das vacas 7 a 21 dias antes de parir. O aumento da massa de papilas ruminais pode ser explicado pelo aumento da IMS e dos níveis de ACC na dieta. Nesta situação a investigação passa pela análise da adaptação à dieta e do consumo excessivo de ACC.

O segundo grupo inclui vacas no pico de IMS (Nordlund, 2003a), sendo particularmente sensíveis a alterações bruscas de alimentos, falhas de formulação e manejo da manjedoura. Além disso, o aumento do risco é justificado pela grande quantidade de ácidos produzidos pelo rúmen. Desta forma, neste segundo período devemos nos cingir principalmente aos erros de formulação e disponibilidade de alimento. Mulligan *et al*, (2006) citando (Oetzel, 2005) afirma que a maior prevalência de ARSA ocorre entre os 80 e os 150 DEL, e que a menor verifica-se nos animais com menos de 80 DEL em regime de TMR. Outro estudo (Oetzel *et al*, (1999) citado por Plaizier *et al*, 2008) envolvendo 14 explorações em Wisconsin, detectou uma prevalência de 20,1% no início e pico de lactação. Mulligan *et al*, (2006) citando Garrett *et al*, (1997) reporta uma incidência de 40% de animais com pH baixo em 1/3 das explorações estudadas. Por outro lado, estudos realizados na Austrália e Irlanda apontam valores entre 10 a 15% para animais em regime de pastoreio (O'Grady *et al*, 2008).

De acordo com Geishauser *et al*, (2012) o pH ruminal diminui desde a altura do parto até aos 77 DEL, e após este período sobe sequencialmente até aos 330 DEL. Segundo (Gröhn & Bruss, 1990) quando analisamos os valores individualmente, deparamo-nos com pH ruminais mais baixos no 1º mês pós-parto, sendo que depois vão aumentando sequencialmente. Contudo, independentemente da altura precisa verifica-se alguma concordância de que os períodos de maior incidência são o início e pico da lactação.

5.7.4.4.5. Diagnóstico e monitorização

O *gold standard* para aferição do pH e diagnóstico de ARSA é realizado através da colheita de líquido ruminal, e o método utilizado é a ruminocentese (Duffield *et al*, 2004). Contudo, este procedimento é um pouco limitante, uma vez que poderá conduzir ao risco de desenvolver peritonites e outros problemas de saúde (Duffield *et al*, 2004; Garrett *et al*, 1999). No entanto, outros métodos têm sido testados e apurados. Um deles é a colheita através de sonda oro-esofágica ruminal, que além de ser mais prática (permite obter amostras seriadas num curto espaço de tempo) é também mais inócua (Geishauser *et al*,

2012). Além deste último método, ainda se podem utilizar sondas através de vacas fistuladas, ou utilizar dispositivos intra-ruminais de monitorização contínua (Duffield *et al*, 2004; Steiner *et al*, 2014). Este último tem a vantagem de permitir monitorizar e registar as variações que ocorrem ao longo do dia (Keunen *et al*, 2002; Duffield *et al*, 2004; Steiner *et al*, 2014). Dependendo do tipo de técnica que usamos para a recolha e análise de pH ruminal, os resultados podem ser diferentes. Oetzel, (2010) refere que o critério para definir ARSA pelo pH ruminal deve considerar o local onde se realizou a colheita e o método utilizado.

Desta forma, os limites a partir dos quais consideramos ser um caso de ARSA variam de técnica para técnica. Outros autores, como é o caso de Steiner *et al*, (2014) afirmam que a diferença entre os métodos de colheita não são relevantes. Além disto, a composição da mistura e a hora de alimentação também são factores importantes na hora da análise dos resultados (Duffield *et al*, 2004). Segundo Keunen *et al*, (2002) devemos ter em atenção que o pH ruminal diminui consideravelmente ao longo do dia, e por isso a hora em que a colheita é realizada influencia o valor do pH ruminal medido. Assim, existe alguma controvérsia em relação aos *cut offs* que se utilizam para considerar se estamos perante um caso de ARSA.

Duffield *et al*, (2004) advoga que se as amostras foram obtidas através de ruminocentese o limiar é 5,5; por outro lado se foram obtidas através de cânula ou sonda os *cut offs* são 5,8 e 5,9 respectivamente. Já Garrett *et al*, (1999) considera ser um caso de ARSA quando o pH é $\leq 5,5$ independentemente da técnica. Por outro lado Plaizier, Garner, Droppo, & Whiting, (2004) defende que para amostras colhidas através de sonda oro-esofágico ruminal o limiar é de 6,0, desde que a amostra seja obtida após 4 horas da distribuição do alimento. Gozho *et al*, (2005) considera ser um caso de ARSA quando o pH ruminal encontra-se e permanece entre 5,2 e 5,6 pelo menos 3h/dia. Para Cooper, Klopfenstein, & Stock, (1999) os valores de pH ruminal devem estar compreendidos entre 5,2 e 5,6 para se tratar de um caso de ARSA. De igual modo, podemos estar perante um caso de ARSA desde que o pH ruminal se mantenha abaixo de 5,6 por mais de 3 h/dia (Kleen *et al*, 2003; Gozho, Plaizier, Krause, Kennedy, & Wittenberg, 2005; Plaizier *et al*, 2008). Por outro lado, Beauchemin, Yang, & Rode, (2003) e Zebeli, Dijkstra, *et al*, (2008) advogam o valor de pH ruminal $<5,8$ como limiar para ARSA. Contudo, os últimos defendem que perante esse valor o pH ruminal deve permanecer assim pelo menos 5h/dia.

Um estudo realizado por (Geishauser *et al*, 2012) apresentou uma média de pH ruminal de 6,64 (5,94 e 7,42). Neste mesmo estudo (Geishauser *et al*, 2012) verificou que durante o dia a curva de pH ruminal apresenta-se sob a forma de curva sinusal, com um máximo de pH ruminal na manhã (9:15) e à tarde (15:33) e com um mínimo de pH ruminal por volta das 12:27. De acordo com (Keunen *et al*, 2002; Krause *et al*, 2002) o período do dia durante

o qual o pH ruminal está abaixo dos 5,6 ou abaixo de 5,8 é mais importante do que a média diária do pH ruminal.

De acordo com Garrett *et al*, (1999) o nível a partir do qual consideramos ser preocupante a ARSA é quando mais de 25% dos animais analisados se encontram abaixo do *cut of point* estipulado (5,5).

No que compete à amostragem Nordlund (2003a) afirma que testando um grupo representativo de vacas em cada uma das fases, permitirá identificar e solucionar rápido e eficazmente o problema. Por seu lado Oetzel, (2003b) sugere uma amostragem de 12 vacas no período de risco e neste caso se 3 ou mais tiverem pH ruminal abaixo de 5,5 consideramos que a exploração sofre de ARSA. Além disso, recomenda que as amostras devem ser colhidas 2 a 5 h depois da alimentação ou 5 a 8 horas depois da introdução da TMR para encontrar o nadir do pH.

Em termos de sinais clínicos a situação é bem mais complicada dado que não existe um sinal característico para monitorizar a ARSA no rebanho. No entanto, tem sido avaliada a possibilidade de se considerar diversos factores que individualmente são inespecíficos, mas que em conjunto podem ser considerados para esse efeito. Nordlund, (2003b) e Mulligan *et al*, (2006) sugerem que a monitorização das claudicações, deslocamentos do abomaso, perda de CC, síndrome da veia cava caudal, SDG, formulação nutricional e análise do fluido ruminal são pontos importantes na investigação e controlo de ARSA nas explorações. De acordo com os vários sinais clínicos podemos tentar perceber se se trata de um caso de ARSA ou não. Oetzel, (2010) citando Nordlund *et al*, (1995) sugere que uma incidência de taxa de laminite maior que 10% suscita uma suspeita de ARSA. Allen, (1997) e Garrett, (1996) citado por Mulligan *et al*, (2006), pela análise de diversos estudos, demonstraram uma fraca relação entre a percentagem de gordura do leite e o pH ruminal. Contudo, Cook *et al*, (2005) citado por Mulligan *et al*, (2006) sugere que se na exploração a percentagem de gordura no leite for $\leq 2,5\%$ então a ARSA deve ser investigada. Segundo Mulligan *et al*, (2006) citando Zaaijer & Noordhuizen, (2003) e Garry, (2002) a consistência fecal, a fibra e o enchimento do rúmen podem ser também usados como parâmetros para avaliar o correcto funcionamento do rúmen e a existência de ARSA.

Segundo Mulligan *et al*, (2006) numa exploração leiteira várias das seguintes situações podem levantar suspeitas de ARSA: mais 15% dos animais com *score* de locomoção igual ou superior a 3; mais de 20% das vacas que estão deitadas, não estão a ruminar; consistência fecal extremamente fluída (*score* <3); 10% das vacas a meio da lactação têm valores de gordura $\leq 2,5\%$ ou se 10% das vacas a meio da lactação tiverem concentrações de gordura <0,4 % em relação ao TP. Por outro lado, se os níveis de peFDN não forem adequados e estivermos perante altos níveis de ACC e o espaço de manjedoura e o manejo não forem adequados, a ARSA deve ser tida em conta.

A capacidade do sistema de alimentação e da dieta para promover a máxima quantidade de tampão ruminal deve ser avaliada como parte do trabalho de diagnóstico de ARSA no rebanho (Oetzel, 2010). Análises químicas húmidas de amostras colhidas do TMR da manjedoura podem ser particularmente efectivas na determinação actual de DCAD da dieta distribuída às vacas em lactação. Dietas com valores de DCAD medidos abaixo dos + 230 mEq/kg de (Na + K) - (CL + S) devem ser suplementadas com tampões adicionais para fornecer mais Na ou K relativamente a Cl e S (Oetzel, 2010).

Tampões endógenos podem ser estimados pela observação de vacas a ruminar (o objectivo é que 40% das vacas estejam a ruminar ao mesmo tempo) e pela medição da granulometria das partículas da TMR actualmente consumida pelas vacas usando o PSPS (Oetzel, 2010).

É muito difícil avaliar e quantificar o grau de selecção de alimento em dietas TMR. A maneira mais rigorosa de o fazer é recolher amostras representativas de TMR aproximadamente 2 horas depois da alimentação e então analisar a granulometria das partículas a cada tempo (Oetzel, 2010). Contudo recolher amostras representativas da manjedoura é complicado e tedioso, porque recolher 12 amostras ou mais representativas de todo o comprimento da manjedoura, misturar e depois agitar e ainda ter que fazer este processo por mais 6 a 10 vezes durante o dia não é muito prático. Uma abordagem mais racional é avaliar inicialmente o comprimento das partículas da TMR, se a proporção de partículas longas é <15% e se as mesmas não são fenos grosseiros e a MS está abaixo dos 50%, então é desnecessário fazer uma avaliação da escolha de alimentos na TMR (Oetzel, 2010). Se houver problemas em uma ou mais dessas áreas, então é prático começar por comparar o comprimento das partículas das sobras de TMR com o que é distribuído inicialmente (Oetzel, 2010). Se as sobras não contiverem mais do que 5 a 10% em relação ao TMR distribuído, então considera-se que a questão da selecção de alimento não é uma questão importante. Por exemplo, se o TMR oferecido tiver 18% de partículas longas (diâmetro $\geq 19\text{mm}$) e as sobras 24%, a escolha não é um problema, mas se pelo contrário as sobras do TMR contiverem mais que 28% de partículas longas, então devemos considerar uma avaliação mais exhaustiva (Oetzel, 2010).

Pelo exposto entende-se que a ARSA é um factor limitante para uma produção eficiente. Com isto, depreende-se que uma monitorização periódica seja aconselhável, de forma a diagnosticar ARSA o mais cedo possível, e deste modo, implementar medidas que minimizem e resolvam o problema (Enemark, 2008).

5.7.4.4.6. Prevenção

Os princípios básicos para prevenir ARSA nas explorações leiteiras foram discutidos anteriormente e incluem limitar a ingestão de HCFF, providenciar quantidades adequadas de tampões ruminais e permitir a adaptação ruminal a dietas com grandes quantidades de cereais, além de ter em atenção todas as práticas de manejo (Oetzel, 2010). Além destes podemos recorrer a adição de microrganismos na dieta, estimulação da flora láctica, imunização (Shu *et al.*, 1999) e antibióticos. Contudo, a ARSA continuará a permanecer provavelmente como um problema importante mesmo que esses princípios sejam entendidos e aplicados, uma vez que a linha entre a produção óptima e o consumo excessivo de HCFF é muito tênue. Em algumas situações a sobrealimentação com cereais transitoriamente aumenta a produção de leite e pode ser benéfica (Oetzel, 2010), no entanto, a longo prazo as consequências causadas pela ARSA em termos de saúde e em termos económicos podem ser devastadoras. Além disso uma vaca que experimenta um episódio de ARSA torna-se mais propensa a ter casos recorrentes de acidose ruminal subaguda e inclusive a que estes se agravem (Dohme, DeVries, & Beauchemin, 2008). Quaisquer intervenções nutricionais que possam impedir ARSA sem limitar excessivamente a alimentação de cereais são altamente desejáveis.

A levedura de cerveja, *Saccharomyces cerevisiae*, tem demonstrado um efeito relevante na modelação das condições ao nível do ambiente ruminal de modo a prevenir a acumulação de ácido láctico e a estabilizar o pH ruminal (Marden *et al.*, 2008).

Por outro lado, o *Aspergillus oryzae* tem demonstrado um efeito modesto na estabilização do pH ruminal, segundo um estudo realizado por Chiquette, (2009).

Uma nova abordagem na temática dos probióticos consiste na adição de pequenas quantidades de microrganismos que providenciem a produção de uma pequena mas constante quantidade de lactato no rúmen. Em teoria isto melhora a utilização de lactato pelas bactérias e melhora a resposta ruminal à ARSA. Uma mistura de *Enterococcus faecium* (produtor de lactato) e *Saccharomyces cerevisiae* providenciam a melhor combinação de modo a estabilizar o pH ruminal e a controlar a ARSA (Chiquette, 2009).

Selenomonas ruminantium é uma bactéria que converte o lactato ruminal em AGV. Com a presença de malato na dieta, a atividade da *Selenomonas ruminantium* pelo lactato aumenta (Martin, Sullivan, & Evans, 2000). A suplementação da dieta com malato pode ter uma relação custo/benefício negativa. Contudo a incorporação de variedades de forragem com altas quantidades de malato pode permitir a sua inclusão na dieta a um custo aceitável e ajudar assim na diminuição dos episódios de ARSA (Callaway, Martin, Wampler, Hill, & Hill, 1997).

A suplementação da dieta com ionóforos reduz a produção ruminal de lactato, este efeito parece ser causado pela inibição das bactérias que produzem lactato e pelo melhoramento da competitividade dos utilizadores de lactato (Owens *et al.*, 1998). A monensina foi aprovada nos Estados Unidos da América para aumentar a eficiência alimentar em vacas leiteiras. Contudo, não parece estabilizar o pH ruminal nas vacas em lactação, pelo menos durante o início de lactação (Fairfield *et al.*, 2007). Aparentemente a monensina é mais efectiva na prevenção da acidose ruminal aguda, a qual é caracterizada por uma alta concentração de lactato ruminal (Oetzel, 2010).

O fornecimento à livre disposição de blocos de melaço de baixa humidade contendo tampões pode diminuir a severidade e duração dos episódios de baixo pH ruminal e diminuir a ocorrência de episódios de ARSA (Krause, Dhuyvetter, & Oetzel, 2009). No entanto, segundo Oetzel, (2010) o consumo de tampões não aumenta durante períodos de baixo pH ruminal, sugerindo que as vacas não têm percepção da necessidade de ingestão de tampões quando necessitam. Assim, os benefícios dos blocos com agentes tampões não parecem ser consistentes.

6. Estudo experimental

6.1. Objectivo do estudo

Avaliar a prevalência de ARSA presente nas explorações através da análise dos valores de pH do líquido ruminal de vacas leiteiras. Posteriormente relacionar o pH resultante da análise de líquido ruminal com os resultados do PSPS, qualidade do leite, β -hidroxibutirato no leite, dados produtivos individuais, práticas de manejo alimentar e temperatura ambiente dentro e fora do estábulo.

Além disto será objectivo deste estudo desenvolver metodologias e esquemas de trabalho que permitam fazer uma avaliação concisa e um aconselhamento ao nível do manejo alimentar que se pratica na exploração. Por último, procurar complementar e validar as metodologias desenvolvidas (ou aplicadas) em trabalhos semelhantes, nomeadamente por Geishauser *et al.*, (2012).

6.2. Materiais e métodos

6.2.1. Caracterização do local

Este estudo foi conduzido em 14 explorações portuguesas, sendo que duas delas localizam-se no norte e as restantes na zona centro e sul. Tratam-se de explorações leiteiras em regime intensivo em que o número de animais em ordenha variava entre 100

e 1000. Na maioria das explorações a raça predominante era Holstein-Frísia (algumas realizavam cruzamentos com outras raças, nomeadamente, Vermelha Sueca e Montbéliarde). A alimentação das vacas nas explorações estudadas era na sua maioria (exceptuando três que faziam uma pequena suplementação através de distribuidores automáticos de alimento composto complementar - DAACC) disponibilizada sobre a forma de TMR utilizando misturadores para a realização e distribuição da mesma. O alimento forrageiro predominante na dieta das vacas, era silagem de milho, há excepção de uma que utilizava somente silagem de erva. O número de vezes que a dieta era “chegada à manjedoura” variava de exploração para exploração (2 a 8 vezes/dia). Grande parte das explorações realizavam três ordenhas ao dia e a média de produção das 14 era 30,0 kg (25,8 kg a 32,7 kg).

6.2.2. Amostragem e desenho experimental

Para a análise seleccionaram-se aleatoriamente em média 13 vacas (9-16) por exploração. Em quatro destas explorações tinham sido colocados bolos intra-ruminais de monensina (Kexxtone®, Elanco) nos animais incluídos no ensaio. No total foram amostrados 185 animais saudáveis, com uma média de 50 DEL (5 a 100) sendo que 54 destes animais eram primíparas. A selecção foi realizada tendo em conta que 25% dos animais padeceriam desta doença (dado que é a percentagem de animais amostrados a partir da qual consideramos que a exploração sofre de ARSA) e com um intervalo de confiança de 95% usando o seguinte endereço electrónico (<http://www.winepi.net/uk/index.htm>) em que se selecciona a opção “sample size” e posteriormente a opção “detection of disease”, e no final colocamos os valores que pretendemos. Para a selecção aleatória de animais foi utilizado o programa R® com a função (sample (1:100,size = x)) em que x representa o número de animais previamente definido no ponto anterior. Além dos parâmetros acima mencionados, os animais eram descartados se apresentassem qualquer sinal evidente de doença clínica ou então que o técnico responsável nos alertasse para tal facto.

Este estudo foi realizado entre 1 de Agosto e 31 de Outubro de 2014. Cumprindo as exigências acima referidas, todos os animais seleccionados foram sujeitos à recolha de líquido ruminal através de uma sonda desenvolvida, patenteada e testada por Geishauser e colaboradores (2012).

A colheita foi realizada entre quatro a seis horas após distribuição da primeira refeição da manhã (efectuando todas as colheitas entre as 11:00 e as 14:00 horas do dia). Em cada colheita de líquido verificou-se a quantidade de fluído e se a sonda vinha ou não fechada. Posteriormente a medição do pH realizou-se através de um medidor portátil (Figura 4) testado por Nappert e colaboradores (2001), sendo que, se o valor do pH fosse inferior a

6,0 considerávamos ser um caso de acidose ruminal subaguda (Olson, 1997; Duffield *et al*, 2004). Além disso, este valor é alicerçado pelo facto de que *in vitro* a digestibilidade da fibra diminui quando o pH ruminal apresenta valores abaixo de 6,2 (Calsamiglia *et al.*, 2002; Grant & Mertens, 1992; Grant, 1994).

Figura 9– Medidor de pH portátil.



Realizou-se ainda no mesmo momento a colheita de leite, para medição semiquantitativa dos valores de β HB através de tiras Ketotest® (Elanco). Para a avaliação do TB, TP, teores ureicos do leite (TU) e contagem de células somáticas no leite de cada vaca foram utilizados os dados do contraste. Além disto, registaram-se ainda os seguintes dados de cada vaca testada: média de produção diária, DEL e número de lactações.

Realizou-se o estudo da granulometria, utilizando o PSPS, quer à TMR quer a silagem de milho e erva nas explorações que possuíam este tipo de matérias-primas, verificou-se a temperatura dentro e fora dos estábulos e ainda a temperatura das forragens (silagem de milho e erva) e massa de cerveja.

No final registou-se ainda alguns dados gerais da exploração, como DEL médios, produção diária da exploração, resultados do leite de tanque (TB, TP, TU e CCS) e o custo vaca dia em termos alimentares.

Convém que referir que, este estudo foi realizado com prévia aprovação e consentimento da Comissão de Ética e Bem-Estar Animal (CEBA) da Faculdade de Medicina Veterinária, UL.

6.2.3. Métodos

6.2.3.1. Avaliação do pH ruminal

A avaliação do pH ruminal foi realizada recorrendo à sonda oro-esofágica (Figura 5) usada por Geishauser *et al*, (2012). A sonda tem 2,7 m de comprimento, o colector de amostras (cabeça da sonda) tem 21 cm de comprimento e 30 mm de diâmetro, e possui 18 aberturas

com 8 mm cada, sendo que a capacidade do copo colector de líquido ruminal é de 40 ml. Segundo Geishauser *et al*, (2012) em 98% das vezes de um total de 117 amostras foram recolhidos mais de 20 ml. Para evitar a contaminação com saliva foi adicionada à sonda um pistão, que tem como função manter os orifícios fechados tanto ao entrar como ao sair do esófago e boca da vaca. Esse pistão tem uma borracha (O-rings) para manter a estanquidade da sonda.

Figura 10 – Sonda esofágico-ruminal e os principais componentes



Legenda: 1 – copo colector do líquido ruminal; 2 – extremidade superior da cabeça da sonda que contem os orifícios de entrada de líquido ruminal e pistão; 3 – manete de abertura do pistão.

Posteriormente o pH do líquido ruminal foi medido através do medidor portátil *Laqua pHmeter*.

Este era calibrado com duas soluções padrões de pH 4,01 e 7,00, uma vez ao dia antes do início dos trabalhos em cada exploração.

A introdução da sonda para colheita foi realizada da seguinte maneira (Figura 6): inicialmente colocava-se os dedos no espaço interdentário e fazendo uma ligeira pressão sobre o palato a vaca abria a boca, posteriormente a sonda era introduzida sem forçar, sendo que existindo resistência interrompíamos o processo. Após a introdução de dois metros, no mínimo, e quando se sentia uma pequena resistência, considerávamos que a extremidade da sonda estava no local correcto. Após cada intubação a sonda era lavada em água corrente.

Figura 11 – Fases da colheita e análise o pH do líquido ruminal.



Legenda (da direita para a esquerda): Introdução da sonda; abertura do êmbolo; recolha do líquido ruminal; medição do pH ruminal.

6.2.3.2. *Penn State Particle Separator*

A avaliação da granulometria das dietas (Figura 7) realizou-se na maioria das vezes entre uma a três horas depois da administração do alimento na manjedoura e para a realização do mesmo eram colhidas seis amostras de sítios diferentes. Além disso, houve o cuidado de retirar as amostras o mais distante possível do local onde as vacas estavam alimentar-se.

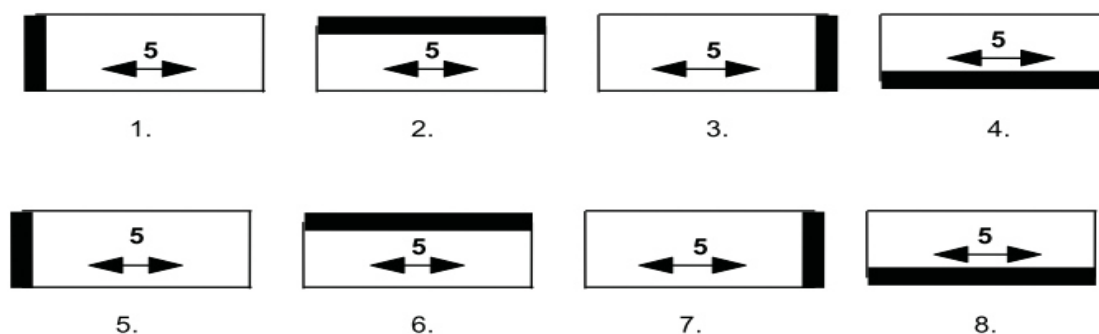
Figura 4 – *Penn State Particle Separator* de quatro caixas; as diferentes dimensões dos crivos.



Posteriormente as amostras eram colocadas no topo do PSPS e 40 agitações eram realizadas como demonstra a Figura 8. No final, a quantidade que ficava retida em cada crivo era pesada e por fim realizados os cálculos necessários para a obtenção das percentagens retidas em cada crivo, para posterior comparação com os valores padrão.

Para as silagens de milho e erva procedia-se da mesma forma. Todo o processo foi realizado segundo as normas de Heinrichs, (2013).

Figura 5 - Demonstração esquemática do número e modo de movimentos a realizar, após colocação do alimento no topo do PSPS. Adaptado de Heinrichs, (2013).



6.2.3.3. Qualidade do leite

Foram avaliados os TB, TP, TU e CCS quer individualmente (contraste leiteiro), quer do leite de tanque de cada exploração (análises da empresa que recolhe o leite).

6.2.3.4. Detecção β -hidroxibutirato no leite, através de tiras de *ketotest*®

A cada animal foi retirado leite para um recipiente com as devidas técnicas e cuidados de higiene, respeitando sempre o protocolo de controlo de higiene e qualidade de leite implementado na exploração, para posterior medição do β -hidroxibutirato no leite (Figura 9). O *cut off* utilizado para caracterizar uma vaca como tendo CSC foi de β -hidroxibutirato $\geq 100 \mu\text{mol/l}$. Este teste foi sempre realizado entre as 10:00 e as 13:00 horas.

Figura 6 – Tiras de detecção de β -hidroxibutirato no leite



6.2.3.5. Dados produtivos de cada animal sujeito ao estudo

Os dados de cada animal foram recolhidos a partir de programas de gestão, presentes nas explorações, sendo os programas utilizados o Dairy Plan® da Westfalia, Isaleite® da Isagri e Alpro® da DeLaval.

6.2.3.6. Avaliação da temperatura dos alimentos e do ambiente (dentro e fora dos estábulos)

A temperatura quer dos alimentos quer do ambiente foi realizada através de um termómetro com uma sonda de 15 cm de comprimento e com uma escala de -50 °C a +300 °C (Figura 10). Sendo que, em cada local específico foram realizadas cinco medições de forma aleatória. Será relevante referir que a temperatura ambiente era registada entre as 11:00 e as 13:00 horas, com o mesmo termómetro utilizado na medição da temperatura dos alimentos.

Figura 7 – Medição da temperatura de um silo de massa de cerveja



6.2.3.7. Registo, tratamento de dados e análise estatística

Os dados de estatística descritiva deste estudo foram organizados recorrendo ao programa Microsoft® Office Excel 2013, tendo sido utilizado para a análise estatística, o programa SAS® 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

Os dados recolhidos neste estudo, e que posteriormente deram origens a muitas das variáveis utilizadas, incluíram: a exploração; temperatura dentro (Tint) e fora (Text) dos estábulos e das silagens de milho (Tsm) e erva (Tse) e massa de cerveja (Tdreche); PSPS19; percentagem de partículas com granulometria $\geq 8\text{mm}$ e $<19\text{mm}$ (PSPS8); percentagem de partículas com granulometria $\geq 1,18$ e $< 8\text{mm}$ (PSPS1,18); percentagem de partículas com granulometria $< 1,18$ (bottom); DEL, produção diária de leite (PL); número de lactações das vacas (NL); TB, TP e TU; contagem de células somáticas (CCS); o teor de βHbI , pH ruminal; pH ruminal médio (pHm), mínimo (pHmin) e máximo (pHmax); estanquicidade da sonda ruminal (ESR) e quantidade de fluido ruminal recolhido (Qtf).

Posteriormente foram criadas algumas variáveis categóricas para facilitar a realização da análise estatística:

MON – em que o código (0) corresponde a vacas sem bolo intra-ruminal de monensina e o código (1) a vacas com bolo intra-ruminal de monensina;

PM - classifica única e exclusivamente os animais como primíparas (1) e múltiparas (2);

EXP – Exploração

CSCI – cetose subclínica quando teor de β HBI é igual ou superior a 100 mmol/l

β HBI – classifica o teor de β HB no leite através de tiras ketotest® em:

0 = 0 mmol/l

1 = 50 mmol/l

2 = 100 mmol/l

3 = 200 mmol/l

4 = 500 mmol/l

5 = 1000 mmol/l;

ESR – corresponde a variável que identifica se a sonda estava aberta (1) ou fechada (2);

Igualmente foram criadas as seguintes variáveis contínuas:

ApH – corresponde à amplitude de pH ruminal (pH máximo – pH mínimo);

CSt – soma do alimento composto complementar e silagem de milho;

Parsa – prevalência de acidose ruminal subaguda nas explorações;

pHm – pH ruminal médio da exploração;

PSPSt8 – percentagem de partícula com granulometria ≥ 8 mm;

PSPSt1,18 – percentagem de partícula com granulometria $\geq 1,18$ mm;

RPG - rácio do TP e TB;

Para analisar as variáveis dependentes de tipo contínuo (pH ruminal, pHm, PL, TB, TP, TU, Parsa) utilizou-se o Proc MIXED do SAS® 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA), sendo feito o ajustamento de modelos que incluíram diversas variáveis independentes categóricas e contínuas (covariáveis), sendo retido nos modelos finais apenas as variáveis contínuas que se apresentaram um valor de P inferior a 0,10 e as variáveis categóricas em teste quando se justificou. Apresentam-se as médias dos mínimos quadrados (*LSMEANS*) quando os modelos retiveram variáveis categóricas explicativas e as equações de lineares quando os modelos continham apenas variáveis contínuas explicativas.

Para analisar as variáveis dependentes de tipo binário (CSCI, MON) utilizou-se o Proc GLIMMIX do SAS® 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA), seleccionado a distribuição binária e a transformação em logit como função de ligação (*Link function*), sendo feito o ajustamento de modelos que incluíram diversas variáveis independentes categóricas e

contínuas (covariáveis), sendo retido nos modelos finais as apenas as variáveis contínuas que se apresentaram um valor de P inferior a 0,10 e as variáveis categóricas em teste quando se justificou. Apresentam-se as médias dos mínimos quadrados expressos em (*LSMEANS*) quando os modelos retiveram variáveis categóricas explicativas e as equações de lineares quando os modelos continham apenas variáveis contínuas explicativas.

7. Resultados

Resultados do PSPS da silagem de erva e milho e do TMR

Os valores são apresentados de acordo com o tamanho de partícula e encontram-se distribuídos por ordem decrescente da esquerda para a direita. No final de cada tabela estão representados os valores médios, mínimos e máximos para cada tamanho de partícula, com indicação dos respectivos valores de referência.

Os resultados do PSPS da silagem de erva nas diferentes explorações que utilizam este tipo de forragem (n=10) estão apresentados na Tabela 9. Verifica-se em geral que os resultados da PSPS19 são muito discrepantes dos valores padrão, e que por consequência irão interferir nos valores da PSPS8 e PSPS1,18.

Tabela 12 - Resultados do PSPS da silagem de erva nas diferentes explorações e os respectivos valores de referência.

Exploração	Percentagem de partículas da Silagem de Erva			
	≥ 19 mm	≥ 8 e < 19 mm	≥ 1,18 e < 8 mm	< 1,18 mm
Exp1	54	32	9	5
Exp2	27	42	18	13
Exp3	57	32	7	5
Exp4	48	45	5	3
Exp5	58	33	4	4
Exp6	56	32	6	5
Exp8	40	41	14	6
Exp9	8	66	14	11
Exp10	52	27	11	9
Exp11	36	46	14	4
Média	44	40	10	7
Mínimo	8	27	4	3
Máximo	58	66	18	13
Valores recomendados*	10 a 20	45 a 75	30 a 40	<10

*(Heinrichs, 2013)

Os resultados da silagem de milho das 11 explorações onde essa forragem é usada, estão expostos na tabela 10.

No que compete ao PSPS da silagem de milho, os resultados encontram-se mais aproximados com os valores recomendados. Na maioria dos casos, os valores médios encontram-se dentro dos padrões ou muito próximo dos mesmos. No PSPS da silagem de milho o problema reside na PSPS8, em que a percentagem mais elevada de partículas com essa granulometria limita a PSPS1,18.

Tabela 13 - Resultados do PSPS da silagem de milho nas diferentes explorações e os respectivos valores de referência.

Exploração	Percentagem de partículas da Silagem de Milho			
	≥ 19 mm	≥ 8 e < 19 mm	≥ 1,18 e < 8 mm	< 1,18 mm
Exp1	6	61	16	17
Exp2	3	69	19	9
Exp3	6	69	15	11
Exp4	4	66	15	16
Exp5	6	71	11	12
Exp6	8	67	12	12
Exp7	8	73	12	7
Exp8	11	63	18	9
Exp10	3	77	13	7
Exp13	6	68	14	12
Exp14	7	56	25	11
Média	6	67	15	11
Mínimo	3	56	11	7
Máximo	11	77	25	17
Valores recomendados*	3 a 8	45 a 65	20 a 30	<10

*(Heinrichs, 2013)

De acordo com a análise do PSPS da TMR (Tabela 11) referentes a todas as explorações que entraram no estudo, já que todas elas apresentavam este tipo de regime alimentar, verifica-se que os valores mínimos e máximos estão de um modo geral dentro dos padrões. No entanto, verifica-se há uma ligeira diferença no valor médio PSPS19.

Tabela 14 - Resultados do PSPS da TMR nas diferentes explorações e os respectivos valores de referência e quantidades de alimentos com capacidade acidogénica na dieta.

Exploração	Percentagem de partículas da TMR				Alimentos com capacidade acidogénica (kg MS)		
	≥ 19mm	≥ 8 a <19mm	≥ 1,18 a <8mm	<1,18mm	Quantidade de silagem de milho	Quantidade alimento composto complementar	CSm
Exp1	10	35	11	44	9,1	9,4	18,5
Exp2	2	33	13	53	10,1	12,3	22,4
Exp3	11	30	14	46	9,1	13,0	22,1
Exp4	4	40	12	44	6,2	11,5	17,7
Exp5	37	23	9	32	4,9	11,4	16,3
Exp6	13	37	12	38	6,5	12,3	18,8
Exp7	4	40	15	42	9,8	13,5	23,3
Exp8	8	34	16	42	7,3	14,3	21,6
Exp9	8	30	13	48	ND	ND	ND
Exp10	5	33	9	53	7,3	15,6	22,9
Exp11	14	28	17	41	NU	15,5	15,5
Exp12	31	20	14	36	8,0	10,8	18,8
Exp13	4	51	10	36	8,8	10,3	19,1
Exp14	12	29	18	41	7,8	12,0	19,8
Média	12	33	13	42	7,9	12,5	19,7
Mínimo	2	20	9	32	4,9	9,4	15,5
Máximo	37	51	18	53	10,1	15,6	23,3
Valores recomendados*	2 a 8	30 a 50	10 a 20	30 a 40			

*(Heinrichs, 2013); ND – Não há dados; NU – Não utiliza.

Além disso, nesta tabela estão expostas as quantidades (kg MS) de silagem de milho e de alimento composto complementar, que por norma têm na sua constituição HCFF com capacidade acidogénica. A quantidade de alimento distribuído nos DAACC das três explorações que os possuíam, foram incluídos na TMR, dada a quantidade ser mínima, e além disso ser disponibilizada aos animais em várias refeições repartidas ao longo do dia.

Relação entre a produção de leite das vacas múltiparas (m) e primíparas (p) com os DEL e PSPS1,18.

Perante a análise dos dados, verificou-se que há uma relação entre as variáveis expostas anteriormente. As equações que se seguem expressam essa relação para a produção de leite em primíparas (PLp) e múltiparas (PLm).

$$PLp = 21,05 \pm 0,02 + 0,045 \times DEL \pm 0,31 + 0,66 \times PSPS1,18$$

$$PLm = 27,73 \pm 0,02 + 0,045 \times DEL \pm 0,31 + 0,66 \times PSPS1,18$$

De acordo com as expressões apresentadas verifica-se que as vacas múltiparas produzem mais leite que as primíparas, e que os DEL ($p < 0,05$), bem como o PSPS1,18 ($p = 0,05$), influenciam a produção.

Resultados das medições da temperatura dos alimentos com características perecíveis e da Tint e da Text em cada exploração.

A amplitude térmica foi de 2,2 (0,3 e 6,4) e a temperatura média do estudo fora dos estábulos foi de 27 °C (22 e 32 °C) e dentro foi de 25 °C (22 e 30 °C) como se verifica na Tabela 12.

Tabela 15 - Temperatura do ambiente (dentro e fora dos estábulos), dos alimentos, bem como, valores mínimos, médios e máximos de cada ponto avaliado e ainda amplitude térmica.

Exploração	Amplitude térmica (E-I)	Local					
		Text (E)	Tint (I)	Tsm	Tse	Tdreche	Ttmr
Exp1	1,1	24	23	25	31	29	26,5
Exp2	1,6	29	27	43	38	*	30,6
Exp3	5,5	31	25	26	27	*	27,8
Exp4	1,4	24	23	29	33	59	24,1
Exp5	3,1	32	29	27	27	*	24,6
Exp6	3,3	32	29	30	33	63	29,2
Exp7	0,8	23	22	25	23	*	25,7
Exp8	2,3	32	30	29	32	*	28,6
Exp9	0,3	22	22	40	*	62	30,5
Exp10	1,9	27	25	29	32	*	27,0
Exp11	6,4	31	24	*	31	*	24,8
Exp12	2,2	24	22	*	*	*	24,2
Exp13	0,4	22	22	22	*	28	21,9
Exp14	0,7	22	22	27	*	58	24,1
Média	2,2	27	25	29	31	50	26,4
Mínimo	0,3	22	22	22	23	28	21,9
Máximo	6,4	32	30	43	38	63	30,6

*Alimento inexistente na exploração

A temperatura média da silagem de milho foi de 29 °C (22 e 43 °C). A temperatura média da silagem de erva foi de 31 °C (23 e 38 °C). Em relação a temperatura média do estudo da massa de cerveja verificou-se que foi de 50 °C (28 e 63 °C). A temperatura média da TMR foi de 26,4 °C (21,9 e 30,6 °C). Em algumas explorações como é o caso da 2, 3, 6, 8, 9 e 10 a temperatura da TMR, está acima da média.

Resultados das medições de pH ruminal por exploração

Considera-se um caso de ARSA sempre que o número de vacas com pH ruminal inferior a 6, represente 25% ou mais das vacas analisadas. Por outro lado, a exploração apresenta um risco de desenvolver ARSA quando o número de vacas positivas corresponde a 15 a 25% da amostra. De igual forma, o risco é negativo sempre que o número de vacas com pH ruminal abaixo dos 6 for inferior a 15% das vacas analisadas. Assim, pela análise da Tabela 13 verifica-se que existem quatro explorações com ARSA, duas em risco e oito negativas.

Tabela 16 - Resultados das medições do pH ruminal expressando os valores mínimos, médios e máximos, bem como, a prevalência de ARSA em cada exploração e a respectiva interpretação face ao resultado.

Exploração	pHm	pHmin	pHmax	ApH	Resultado	PARSA	Interpretação
Exp1	6,3	5,9	6,6	0,70	1/9	11%	Negativa
Exp2	6,1	5,6	6,8	1,20	6/14	43%	Positiva
Exp3	6,2	5,8	6,4	0,60	1/12	8%	Negativa
Exp4	6,4	6,0	6,7	0,70	0/11	0%	Negativa
Exp5	6,5	6,1	6,8	0,70	0/12	0%	Negativa
Exp6	6,0	5,5	6,4	0,90	8/15	53%	Positiva
Exp7	6,1	5,5	6,7	1,20	7/15	47%	Positiva
Exp8	6,0	5,5	6,3	0,80	6/15	40%	Positiva
Exp9	6,1	5,7	6,8	1,10	3/15	20%	<i>Risco</i>
Exp10	6,2	5,7	6,5	0,80	3/15	13%	Negativa
Exp11	6,4	6,0	6,8	0,80	0/12	0%	Negativa
Exp12	6,5	6,2	6,8	0,60	0/15	0%	Negativa
Exp13	6,2	5,8	6,7	0,90	2/10	20%	<i>Risco</i>
Exp14	6,3	5,9	6,6	0,70	1/14	7%	Negativa
Média	6,24	5,80	6,64	0,84		19%	
Mínimo	6,00	5,50	6,30	0,60		0%	
Máximo	6,50	6,20	6,80	1,20		53%	

Relação entre o pHm da exploração e o CSm expressos em kg MS.

Estas últimas variáveis apresentam uma relação negativa (* $p = 0,02$), com o pH ruminal, sendo que essa relação é evidenciada pela subsequente equação:

$$\text{pHm} = 7,31 \pm 0,02 - *0,053 \times \text{CSm}$$

isto é, por cada aumento de 1 kg de MS de CSm o pH diminui 0,053 pontos.

Relação entre a PARSA e a ApH

Perante os resultados estatísticos, depreende-se que há uma relação entre as variáveis acima referidas ($*p = 0,003$). A equação que se segue representa essa relação.

$$\text{Parsa} = -0,38 \pm 0,188 + *0,68 \times \text{ApH}$$

Assim, quando aumenta um ponto na ApH a prevalência aumenta 0,68%.

Relação entre o pH ruminal e a PSPS19

Neste estudo, constatou-se que por cada aumento de 1% no conteúdo da caixa do PPS ≥ 19 mm o pH ruminal aumenta 0,012 pontos ($^{\circ}p < 0,02$). A equação que expressa esta relação positiva é:

$$\text{pH} = 6,08 \pm 0,004 + ^{\circ}0,012 \times \text{PSPS19}$$

Relação entre o pH ruminal e a PPS8

Conforme os resultados obtidos verifica-se uma tendência negativa entre o pH ruminal e o PPS8 ($*p = 0,07$). Esta tendência é expressa pela seguinte equação:

$$\text{pH} = 6,63 \pm 0,006 - *0,012 \times \text{PSPS8}$$

Ou seja, por cada aumento percentual do conteúdo em PPS8, o pH ruminal tende a diminuir 0,012 pontos.

Relação entre o pH ruminal e o PPS1,18.

De acordo com os dados obtidos, o pH ruminal não tem qualquer relação com o PPS1,18 ($p = 0,7719$).

Relação entre o pH ruminal e o PSPSt8.

Perante os resultados não se verifica uma relação significativa entre o pH ruminal e o PSPSt8 ($p = 0,133$).

Relação entre o pH ruminal e o PSPSt1,18.

Não há relação entre o pH ruminal e o PSPSt1,18 ($p = 0,129$).

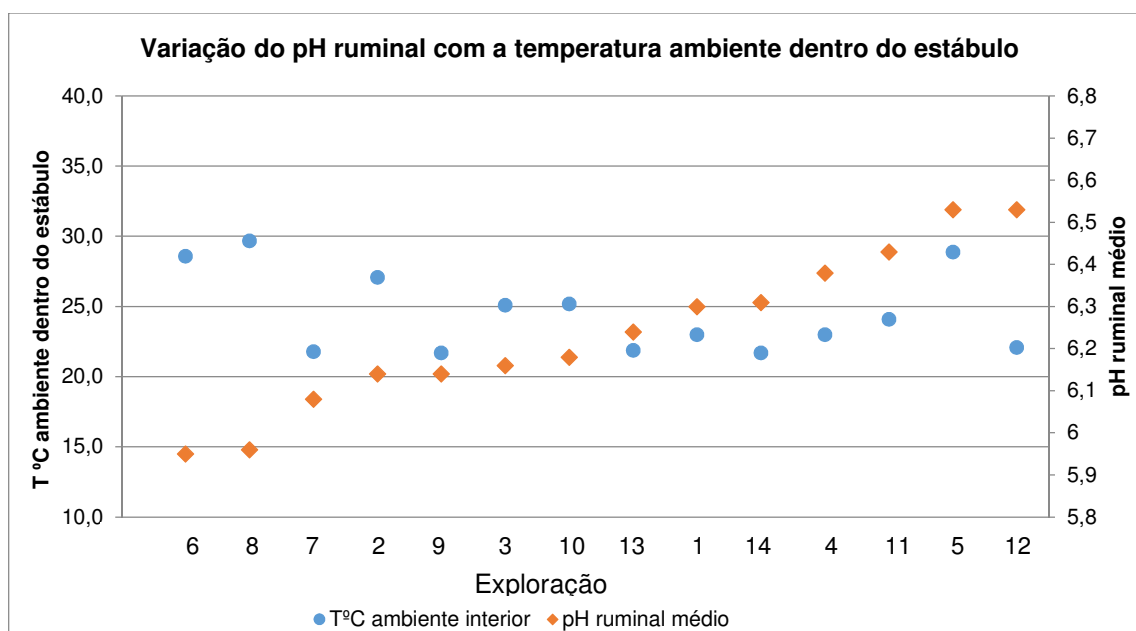
Relação entre o pH ruminal e a Tint e a PPS19.

Pela análise estatística, verificou-se uma relação negativa entre os valores de pH ruminal e a Tint ($^{\circ}p = 0,023$) e uma relação positiva com a PPS19 ($^{\circ}p = 0,0018$), já antes verificada. Desta forma, a equação que representa esta relação é a seguinte:

$$\text{pH ruminal} = 6,83 \pm 0,012 - ^{\circ}0,031 \times \text{Tint} \pm 0,003 + ^{\circ}0,013 \text{ PPS19}$$

Ou seja, por cada grau que a Tint aumenta, o pH ruminal diminui 0,03 pontos, e por cada ponto percentual que a PPS19 aumenta, o pH ruminal aumenta 0,013 unidades. Estes dois factores, Tint e a PPS19, justificam 64% das variações do pH ruminal neste estudo.

Gráfico 5 - Variação do pH ruminal com a temperatura ambiente dentro do estábulo nas diferentes explorações.



Relação entre o pH ruminal e ESR.

Durante a colheita de líquido ruminal, por vezes, a sonda não ficava totalmente fechada. Assim, testou-se se o pH ruminal era estatisticamente diferente entre as colheitas com sonda aberta ou com sonda fechada à retirada. E como podemos observar na Tabela seguinte não há qualquer relação.

Tabela 17 - Relação entre o pH ruminal e a estanquicidade da sonda aquando da retirada do rúmen.

	Fechada	Aberta	Valor de <i>P</i>
ESR	6,23 ± 0,052	6,24 ± 0,052	0,883

Relação entre o pH ruminal e a Qtf.

De acordo com os dados, verificou-se uma ligeira tendência ($*p = 0,09$) entre estas duas últimas variáveis, isto é, quando a quantidade de fluido aumenta 1ml o pH ruminal tende a diminuir 0,004 pontos, como representa a seguinte equação:

$$\text{pH} = 6,21 \pm 0,002 - *0,004 \times \text{Qtf}$$

Relação entre a PL e o pH ruminal

Não se verificou qualquer relação entre o pH ruminal e a PL ($p = 0,991$).

Relação entre o TB e o pH ruminal

Neste estudo não se verificou qualquer relação entre o TB e o pH ruminal ($p = 0,910$).

Resultados das medições de β HBI por exploração e paridade

A prevalência CSC mínima e máxima é de 18% e 92% respectivamente, e a média é de 51%. De acordo com a Tabela 15 depreende-se que as vacas multíparas apresentam uma prevalência maior de CSC, comparativamente com as vacas primíparas.

Tabela 18 – Prevalência de CSC por exploração.

Exploração	Resultado Exploração	Prevalência Exploração
Exp1	2/9	22%
Exp2	5/14	36%
Exp3	10/12	83%
Exp4	2/11	18%
Exp5	5/12	33%
Exp6	7/15	47%
Exp7	7/15	47%
Exp8	5/15	33%
Exp9	9/15	60%
Exp10	8/15	53%
Exp11	11/12	92%
Exp12	9/12	75%
Exp13	7/10	70%
Exp14	6/14	43%
Média		51%
Mínimo		18%
Máximo		92%

Relação entre a probabilidade de ter CSC e a paridade

Pelos resultados obtidos não há qualquer relação entre a paridade e a probabilidade de ter CSC ($p = 0,227$).

Relação entre o uso de bolo intra-ruminal de monensina e probabilidade de ter CSC.

Pelos resultados obtidos não há qualquer relação entre as vacas que levaram bolo intra-ruminal de monensina e as que não levaram ($p = 0,943$).

Relação entre a CSC e a PL

Os dados evidenciam que as vacas com produções mais elevadas têm maior risco de desenvolverem CSC ($*p = 0,008$). Esta situação pode evidenciar-se na seguinte equação:

$$\text{CSC} = - 2,29 \pm 0,02 + *0,06 \times \text{PL}$$

Ou seja, sempre que a produção aumenta um litro, o risco de desenvolver CSC aumenta 0,06.

Relação do TB tendo em conta a paridade das vacas

Neste estudo, verificou-se uma relação positiva entre o TB e a paridade das vacas, ou seja, as vacas múltiparas a apresentam TB mais elevados em relação às primíparas, como demonstra a Tabela 16.

Tabela 19 - Relação entre a paridade das vacas e o teor butiroso do leite.

	Múltiparas	Primíparas	Valor de <i>P</i>
TB (%)	3,86± 0,16	3,54 ± 0,18	0,05

Relação entre o TB e o uso de monensina.

De acordo com análise realizada, não há qualquer diferença estatisticamente significativa entre o TB e o uso de monensina, como se pode observar na seguinte tabela.

Tabela 20 - Diferença no teor butiroso entre vacas que possuem um bolo intra-ruminal de monensina e as vacas que não possuem.

	Vacas sem monensina	Vacas com monensina	Valor de <i>P</i>
TB (%)	3,86 ± 0,202	3,51 ± 0,281	0,336

Relação entre o TU e o TP e TB.

Pelos dados obtidos, há uma relação entre o TU e o TP e TB. Ou seja, quando observamos um aumento no TP ($\varphi p = 0,06$) e no TB ($*p = 0,02$) é possível prever uma descida dos TU, como demonstra a seguinte equação:

$$TU = 291 \pm 3,7 - *8,40 \times TB \pm 1,39 - \varphi 2,62 \times TP$$

Resultados baseados nos dados gerais do leite de tanque

Resultados da análise do leite de tanque, média de DEL e custo alimentar por exploração.

Pela análise dos dados verifica-se que o TB e TP, em média, estão dentro dos padrões para a raça Holstein Frísia (Tabela 18). No que se refere às células somáticas, os valores médios estão altos e muito próximos das 400.000, limite a partir do qual os produtores

passam a ser penalizados, ou seja, de acordo com estes dados, deduz-se que as explorações 2, 6 e 12 poderão estar a ser penalizadas.

A média de produção por vaca lactante está relativamente baixa em todas as explorações. Os DEL na maioria dos casos estão altos.

Tabela 21 - Teor butírico e proteico do leite, bem como de ureia, contagem de células somáticas, litros vaca dia e dias em leite.

Exploração	Dados do leite de tanque da Exploração					
	TB (%)	TP (%)	TU (ppm)	CCS (x1000)	PL (l/dia)	DEL
Exp1	3,42	3,26	244	237	25,8	220
Exp2	3,16	3,48	329	442	30,1	215
Exp3	3,28	3,1	159	258	31,7	-
Exp4	3,72	3,26	269	267	32,7	-
Exp5	-	-	-	-	29,2	194
Exp6	3,32	3,13	199	629	26,7	234
Exp7	-	-	-	-	31,1	182
Exp8	3,46	3,3	240	281	32,5	212
Exp9	-	-	-	-	28,2	217
Exp10	3,85	3,23	285	359	29,8	195
Exp11	3,63	3,26	179	248	32,4	-
Exp12	3,48	2,93	183	600	29	-
Exp13	3,72	3,32	207	395	27,8	-
Exp14	3,54	3,05	178	356	30,2	176
Média	3,51	3,21	225	370	29,8	205
Mínimo	3,16	2,93	159	237	25,8	176
Máximo	3,85	3,48	329	629	32,5	220

Relação entre o TP com ApH e a PSPS19

De acordo com a análise estatística, concluiu-se que o TP tem uma relação positiva com ApH ($p = 0,037$) e uma relação negativa com a PPS19 ($p = 0,013$). A equação que representa a relação é:

$$TP = 3,01 \pm 0,16 + 0,396 \times ApH \pm 0,003 - 0,011 \times PPS19$$

Relação entre a PL e a média DEL

Pelo tratamento estatístico dos dados pode inferir-se que há uma tendência negativa entre a PL e os DEL ($p = 0,09$). A equação abaixo vem corroborar a tendência abordada.

$$PL = 43,6 \pm 0,03 - 0,07 \times DEL$$

Relação entre RPG e a ApH

A relação entre estas duas variáveis é estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

A equação que demonstra esta relação é:

$$RPG = 0,66 \pm 0,134 + 0,317 \times ApH$$

Desta forma, sempre que o ApH sobe um ponto o RPG aumenta 0,0317.

Relação entre o TU e TP do leite

A relação entre ambas as variáveis é estatisticamente significativa (* $p = 0,01$) e expressa-se da seguinte forma:

$$TU = -610 \pm 81 + *260 \times TP$$

Ou seja, quando o TP do leite aumenta 1% o TU do leite aumenta 260 unidades.

8. Discussão

Na avaliação da granulometria da silagem de erva com o PSPS verifica-se que somente na última caixa é que encontramos valores que estão de acordo com os valores de referência apresentados por Heinrichs (2013). Os restantes resultados, na maioria das vezes, estão muito acima ou abaixo do recomendado. Aliás, se nos focalizarmos nos valores mínimos e máximos, constatamos que há uma grande amplitude entre os mesmos, o que demonstra que as práticas de ensilagem, nomeadamente o corte e processamento, variam muito de exploração para exploração. Assim depreende-se que há muita variabilidade no processo de ensilagem de erva.

Em relação à avaliação da granulometria da silagem de milho verificamos que em média os valores se aproximam dos valores médios recomendados por Heinrichs (2013). Além disso, quando se analisam os valores mínimos e máximos, a amplitude entre eles não é tão acentuada quanto a que se verifica na silagem de erva, dando a entender que a prática de ensilar milho está mais padronizada.

Pela análise da granulometria da TMR constata-se que na maioria dos casos os valores estão em consonância com as recomendações de Heinrichs (2013). No entanto, na maioria das explorações os valores de cada classe estão muitas vezes nos extremos máximos e mínimos recomendados. Uma má mistura, ou partículas de tamanhos muito heterogêneos podem predispor a doenças, nomeadamente ARSA. A elaboração de uma mistura com tempos adequados, isto é, evitar misturar por defeito ou excesso, permite obter uma TMR com tamanhos de partículas adequados em todas as categorias que são importantes para a formação e manutenção da *mat layer* do rúmen (Kleen *et al*, 2003; Oetzel, 2003a).

Assim, o corte apropriado das culturas forrageiras desempenha um papel crucial na sua conservação, isto é, cortes demasiado longos irão dificultar a fermentação, por dificuldade de acondicionamento e posterior manutenção de condições anaeróbias (Johnson, Harrison, Davidson, Mahanna, & Shinnors, 2003; Eastridge, 2006). Portanto no caso das silagens de erva esta situação deve ser tida em conta, dado que, na maior parte das explorações existe uma grande PSPS19. Além disso, silagens bem conservadas conduzem a um aumento da IMS (Eastridge, 2006).

Por outro lado, forragens com tamanhos curtos podem conduzir a redução da mastigação, da produção de saliva e da capacidade de tampão no rúmen, amplificando assim o risco de ARSA (Stone, 2004). Desta forma se os valores forem apropriados podem conduzir a um aumento da IMS sem comprometer a saúde do animal. No entanto, ainda há muita controvérsia em relação ao tamanho de partícula e os seus efeitos a nível ruminal (Bhandari, Ominski, Wittenberg, & Plaizier, 2007). Porém, o tamanho de partícula e a homogeneidade da mistura são importantes, dado que têm um efeito positivo na

performance produtiva das vacas altas produtoras (Arzola-Alvarez *et al.*, 2010). O aumento do tamanho da partícula aumenta o pH ruminal, mas em dietas com uma quantidade de forragem baixa tal não acontece (Arzola-Alvarez *et al.*, 2010).

Quando o tamanho de partícula não segue um padrão, a elaboração da mistura total que será distribuída as vacas altas produtoras, pode comprometer a sua *performance* produtiva. Além disso, toda esta variabilidade pode afectar a elaboração da mistura da dieta e fazer com que haja uma variação de tamanho de partícula e dificulte a mistura e posteriormente facilite a selecção por parte dos animais (Bhandari *et al.*, 2007).

Da análise estatística verificou-se uma tendência ($p = 0,05$) para que quando a PSPS1,18 aumente 1% a PL aumente 1 kg. Esta situação pode ser justificada pelo facto de que uma moderada diminuição do tamanho da partícula tem mostrado melhorar a uniformidade do TMR que por sua vez diminui a possibilidade de escolha de alimento (Zebeli, Tafaj, *et al.*, 2008). A redução da escolha por parte dos animais tem variados benefícios, nomeadamente, na melhoria do ritmo circadiano ao nível do comportamento alimentar das vacas, na baixa variação da ingestão de alimento durante o dia e, além disso, contribui para a diminuição do risco de alterações ruminais em vacas que se alimentam com grandes quantidades de cereais (DeVries, Beauchemin, Dohme, & Schwartzkopf-Genswein, 2009). Os efeitos benéficos da redução do tamanho de partícula no comportamento de selecção de alimento é especialmente óbvio com dietas à base de silagem de milho, porque o corte fino dificulta a selecção. Além disso, segundo Arzola-Alvarez *et al.*, (2010) esta diminuição do tamanho da partícula, melhorará a digestão, aumentará a IMS, a produção de leite e o teor de caseína do leite sem afectar o TB. Mas devemos ter em atenção que dietas com a granulometria das partículas excessivamente reduzida, pode comprometer a ruminação e a fermentação ruminal (Zebeli *et al.*, 2012).

A análise da temperatura ambiente nas explorações permitiu perceber que a amplitude média entre a temperatura dentro e fora dos estábulos é baixa (2,2°C), ou seja, não há praticamente diferença entre elas, predispondo facilmente as vacas a *stress* térmico por calor. Depreende-se desta forma que as instalações não estão bem orientadas, construídas e desenhadas, podendo comprometer o isolamento térmico dos animais (Gay, 2009). Esta situação é ainda mais problemática nos meses de verão e outono, dado que, no nosso clima as temperaturas podem atingir facilmente os 30 a 40 °C (IPMA, 2014).

Portanto, se a dissipação do calor não for eficaz e os métodos de arrefecimento forem ineficientes podemos ter enormes perdas, tanto a nível produtivo como reprodutivo (West, 2003; Soriani, Panella, & Calamari, 2013). Logo o *stress* térmico parece representar um problema na maioria das explorações leiteiras em Portugal. Para o controlar, as

explorações deveriam dispor de mecanismos de arrefecimento do ambiente dentro dos estábulos (chuveiros, nebulizadores e ventoinhas) de modo a evitarem altos índices temperatura/humidade no interior dos estábulos (Jones & Stallings, 1999; Keown & Grant, 2005; Shearer, Bray, & Bucklin, 1999). Caso contrário, para além das perdas produtivas e reprodutivas, poderemos predispor as vacas para ARSA. A vaca para diminuir a temperatura corporal aumenta a sudorese e a frequência respiratória, o que conduz a uma diminuição da concentração de potássio e de ácido carbónico (por aumento da excreção de CO₂ via pulmonar) no sangue, podendo resultar num estado de alcalose metabólica. De forma a contrariar esta alcalose, são accionados mecanismos de excreção de bicarbonato através da urina, que consequentemente conduzem a diminuição das reservas de bicarbonato. Dado o bicarbonato ser o agente com maior efeito tampão na saliva, a diminuição das suas reservas no organismo poderá comprometer o efeito tampão da saliva no rúmen (West, 1999; West, 2003; Krause, 2009) e por essa razão o risco de ARSA aumenta.

A relação obtida neste estudo entre o pH ruminal e a temperatura ambiente ($p = 0,023$) vai de encontro a literatura, ou seja, temperaturas mais elevadas predispoem as vacas a terem pH ruminal mais baixos e consequentemente ARSA (Krause, 2009).

No que respeita à temperatura dos principais alimentos com características perecíveis usados nas explorações, é claro que a conservação da massa da cerveja não é realizada da forma mais correcta, dado que, a temperatura média encontrada foi de 50 °C. Esta situação deve-se provavelmente ao mau acondicionamento e conservação (inexistência de ambiente anaeróbio para concluir e estabilizar a fermentação) e também pelo baixo teor de matéria seca que apresenta (Boessinger *et al.*, 2005).

Em relação às silagens verifica-se que algumas não estão bem fermentadas, podendo assim estar a ocorrer perdas no valor nutricional das mesmas. Nestas situações, mais do que optar pelo uso de inoculantes para estabilizar as silagens, seria de ter atenção à fase produtiva em que se encontra a forragem no momento do corte (Eastridge, 2006). Não obstante, é igualmente importante o processo de calcagem, o acondicionamento/manutenção em ambiente anaeróbio e por último, o tempo durante o qual esteve em fermentação (no mínimo 30 dias). Tudo o que proporcionar uma silagem de melhor qualidade e de melhor valor nutritivo conduzirá a um alimento mais digestível e com maior capacidade de aporte de nutrientes (Eastridge, 2006). Koehler *et al.*, (2013) citando Spiekers *et al.*, (2009) aponta que a deterioração aeróbia e o reaquecimento sejam processos de perdas importantes que, na maioria dos casos, não são contabilizados. Além das questões de valor nutritivo, as silagens mal conservadas e com fermentações aeróbias conduzem muitas das vezes ao desenvolvimento de agentes indesejáveis como fungos (produtores de micotoxinas) e bactérias (como *Listeria monocytogenes*) que são muitas

vezes responsáveis por perdas produtivas (Driehuis, 2013). Além disso, não será de desprezar que o consumo por parte dos animais deste tipo de alimentos poderá representar um perigo para a saúde pública dado que alguns dos metabolitos resultantes da digestão e metabolização podem ser excretados no leite (micotoxinas M1 e M2) (Driehuis, 2013). Em relação ao TMR verifica-se que há algumas explorações, com temperaturas da dieta completa mais elevadas. Esta situação pode dever-se a alimentos mal fermentados (Eastridge, 2006), como é o caso das silagens e massa de cerveja. Por outro lado um isolamento térmico ineficiente dentro do corredor de alimentação poderá conduzir também a um aumento da temperatura da TMR. Em último caso, e é uma das situações que mais frequentemente se observa, é a má manutenção das manjedouras (Bolsen & Pollard, 2004), isto é, a limpeza inapropriada das mesmas, ficando restos dos dias anteriores que conduzem a fermentações colaterais. Assim uma TMR com temperaturas mornas ou altas, pode predispor a fungos, a odor a mofo e a partículas de ração alteradas, que podem culminar na redução de ingestão por parte do animal, diminuição da digestibilidade dos alimentos e outros problemas alimentares (Hutjens, 1999; Barmore, 2002). No geral a maioria das vacas altas produtoras não atingem o máximo IMS quando temos TMR com temperaturas mais altas do que o normal, sendo que as vacas de transição ainda são mais selectivas. Presumivelmente além das perdas nutricionais adjacentes, o consumo de alimentos quentes pode dificultar o controlo do *stress* térmico, já que aquando do consumo deste tipo de alimentos, a temperatura corporal poderá aumentar.

A colheita de fluido ruminal realizou-se quatro a seis horas depois da distribuição da primeira alimentação do dia, dado que, segundo Duffield *et al*, (2004) e Krause *et al*, (2002) é nesse momento que o pH ruminal atinge o *nadir* em dietas à base de milho como fonte energética. O período de risco considerado foi entre os 5 e os 100 DEL, tendo em conta o estudo levado a cabo por Geishauser *et al*, (2012).

No presente estudo a média de pH ruminal foi de 6,24 (5,5 e 6,8), um pouco mais baixa do que média de pH de 6,64 (5,94 e 7,42) no estudo realizado por Geishauser *et al*, (2012).

A prevalência média de ARSA nas explorações avaliadas foi de 19% (0 e 53%) e a percentagem de explorações positivas foi de 29%. Estes resultados são concordantes com os obtidos por Garrett *et al*, (1997) citado por Plaizier *et al*, (2008) em pesquisas realizadas em 15 explorações no Wisconsin que revelaram uma prevalência de 19% em vacas no início de lactação e 26% no meio da lactação. Segundo Enemark, (2008) citando Stone, (1999) as perdas vaca/dia numa exploração [†]positiva a ARSA ronda $\pm 1\text{€}$. Fazendo o somatório das vacas em lactação (2200) das explorações afectadas e multiplicando por $\pm 1\text{€}$, estaríamos a prever perdas na ordem dos 2200€ diários. Portanto a ARSA é uma

[†] - Quando 25% ou mais vacas analisadas têm pH ruminal abaixo de um determinado valor.

[‡] US\$1 = aproximadamente 0,89€, a 30 de Junho de 2015

doença subclínica que acarreta bastantes prejuízos para a exploração. Nas explorações 2, a 6, a 7 e a 8 a ARSA deve ser considerada um problema relativamente grave.

A exploração 2, tinha uma PSPS19 relativamente baixa (2%). Assim sendo, a estimulação da ruminação e a quantidade de saliva produzida presumivelmente era baixa. Além disso, constatou-se que a temperatura dentro do pavilhão estava concordante com *stress* térmico que, pelas razões anteriormente apresentadas, diminui a capacidade tampão ruminal. Além disso, possuía uma quantidade de alimentos com capacidade acidogénica acima da média (22,4 kg MS).

A exploração 6 tinha uma PSPS19 acima do recomendado (13%), que poderá levar à selecção de alimento por parte das vacas e predispô-las ao risco de desenvolverem ARSA. De igual forma que a anterior exploração, constatou-se que a temperatura dentro do pavilhão predisponha a *stress* térmico.

Em relação à exploração 7, verificou-se a PSPS19 estava dentro dos valores recomendados, mas mais próximo dos valores mínimos (4%). Assim sendo, a estimulação da mastigação e a quantidade de saliva produzida poderia ser baixa. Além disso, era a exploração com a quantidade de alimentos com capacidade acidogénica mais elevada (23,3 kg MS).

No que diz respeito à exploração 8 a PSPS19 estava dentro das recomendações (8%), no entanto tinha uma quantidade de alimentos acidogénicos na dieta superior à média (21,6 kg MS). Além disso, foi a exploração que apresentou valores de temperaturas mais elevadas dentro do pavilhão (30 °C). Além de mais, será de referir que as quatro explorações, por possuírem dietas à base de silagem de milho, apresentavam menores DCAD que no caso de outros tipos de silagens (e.g. silagem de luzerna), o que predispõe a descidas de pH ruminal (Oetzel, 2010).

Nestas explorações ter-se-ia que controlar a temperatura dentro dos pavilhões para minimizar o *stress* térmico, pelas repercussões que representa para a vaca como abordado anteriormente. Além disso, nas horas de maior calor as vacas tendem a diminuir a IMS e nas horas de menor calor tende a acontecer o inverso (Soriani *et al.*, 2013). Isto cria picos de ingestão e de fermentação que muitas das vezes estão associados a casos de ARSA (Yang & Beauchemin, 2009). Nas explorações com reduzida PSPS19 dever-se-ia adicionar alimentos com tamanhos de partícula maiores, ou então diminuir o tempo de mistura. Nas explorações com tamanhos de partículas mais elevados dever-se-ia proceder ao aumento do tempo de mistura, ou reduzir as quantidades de alimentos com granulometria maior. Por último, dever-se-ia tentar formular da melhor forma a quantidade de alimentos acidogénicos presentes na dieta (Eastridge, 2006). Estes dados são apoiados pela análise estatística que demonstrou que a temperatura ambiente dentro dos estábulos, a PSPS19 e a quantidade de alimentos acidogénicos (ACC e silagem de milho) estão relacionados com

a variação do pH ruminal. Além de que a Tint e a PSPS19 justificam 64% das variações do pH, sendo os restantes 36% justificados por outros aspectos.

Neste estudo verificou-se que o somatório da quantidade (kg MS) de silagem de milho e alimento composto complementar apresentava uma relação negativa ($p = 0,02$), com o pH ruminal. Esta situação é explicada pelo facto de tanto o alimento composto complementar como a silagem de milho possuírem na maioria das vezes quantidades elevadas de alimentos energéticos (milho, cevada, aveia, trigo) com capacidades acidogénicas, isto é alimentos facilmente fermentescíveis (Rustomo *et al.*, 2006). No caso da silagem de milho, devemos ainda acrescentar o facto de que na maioria das vezes esta tem um tamanho de partícula reduzido, que pouco ou nada estimula a mastigação e salivação (Beauchemin & Yang, 2005). A tudo isto acrescenta-se valores de DCAD baixos, o que limita a manutenção do pH ruminal em níveis fisiológicos.

Neste estudo verificou-se que há uma relação estatisticamente significativa entre a ApH e a Parsa ($p = 0,003$). A ApH média neste estudo foi de 0,84 (0,60 a 1,20) resultados bastante mais elevados do que os encontrados por Kleen, Upgang, & Rehage, (2013). Depreende-se que a ApH pode ser um barómetro de avaliação da Parsa nas explorações.

A ApH por si só também pode ser um bom indicador de competição por alimento na manjedoura (hierarquia) e da variabilidade genética individual de cada animal (Mertens, 1997; Oetzel, 2003a; Kleen et al, 2003; Huzzey *et al*, 2006; Rustomo et al, 2006). Isto porque, se neste estudo o pH ruminal médio e os dias em leite não apresentam qualquer relação e se as vacas na mesma exploração estão a comer a mesma dieta, a variações de pH ruminal não deveriam ser muito acentuadas. Ou seja, provavelmente há vacas mais susceptíveis do que outras.

A PSPS19 influencia o pH ruminal ($p < 0,02$). Estes resultados são concordantes com os apresentados por Krause *et al*, (2002), uma vez que, segundo pesquisas realizadas por este autor, verificou que a PSPS19 está directamente relacionado com o tempo que as vacas passam a ruminar. Sendo que quanto mais tempo passam a ruminar mais saliva produzem. Como a saliva é rica em agentes tampões (HCO_3^-) ajuda na neutralização do fluido ruminal e consequentemente reduz o risco de ARSA. Krause *et al*, (2002) advoga também que o conteúdo presente no topo do PSPS é um bom indicador da fibra existente na dieta. Segundo Mertens, (1997) a PSPS19 presentes na dieta é um bom método de mensuração da saúde ruminal. No entanto, a dieta não deve conter PSPS19 exacerbadas, sobre o risco de incentivar as vacas a seleccionar o alimento e concludentemente a predispor-las a ARSA (Mertens, 1997). Foram ainda testadas outras relações entre o pH

ruminal com as diferentes percentagens de partículas em cada caixa do PSPS, mas não se obteve qualquer relação. De entre todas as variáveis testadas, e que não foram estatisticamente significativas, a que se esperaria obter alguma relação era com o *bottom* por ter o tamanho de partícula mais pequeno e conter a grande totalidade de HCFF. Surpreendentemente esta relação com o pH ruminal não se verificou.

Não se verificou qualquer relação entre o pH ruminal e a produção de leite diária ($p = 0,991$) resultados complacentes com os obtidos por O'Grady *et al*, (2008). No entanto, esta situação é bastante plausível, dado que, como se trata de uma doença subclínica, as perdas observadas podem não ser visíveis, tendo em conta somente as produções médias diárias de cada vaca. Portanto, nesta situação o ideal seria observar a produção aos 305 dias com a gordura corrigida aos 4%. No entanto, como o período do estudo foi relativamente curto a aquisição destes dados não foi possível. Uma das hipóteses de modo a dar continuidade a este estudo, seria nas explorações com registos actualizados, recolher as produções aos 305 dias das vacas que entraram neste estudo e verificar se existe alguma relação com o pH ruminal. No entanto, convém frisar que vários autores apontam para uma redução da produção de leite por parte das vacas que sofrem de ARSA (Enemark, 2008; Plaizier *et al.*, 2008).

Relativamente ao TB e o pH ruminal não se verificou qualquer relação entre ambos. Isto pode dever-se a algumas razões nomeadamente, a colheitas de leite para análise da qualidade do mesmo não terem sido efectuadas no mesmo dia (podendo haver um desfasamento de 1 a 2 dias). Outra razão será o facto de o estudo ter sido realizado nos meses mais quentes do ano, que naturalmente é caracterizado por descidas no TB (Heinrichs, Jones, & Bailey, 2005). Ou seja, tanto as vacas com ARSA, como as sem ARSA teriam teores semelhantes de gordura no leite, já que não deverá haver um efeito cumulativo. Além disso, segundo vários autores só temos uma descida na gordura do leite quando um episódio de ARSA se prolonga no tempo (Krause & Oetzel, 2005). A existir essa relação, este último fundamento seria o mais plausível. Por outro lado, Keunen *et al*, (2002) e Gozho *et al*, (2007) advogam que não há qualquer relação entre o TB e o pH ruminal.

Verificou-se que a produção de leite é mais elevada nas vacas múltiparas em relação às vacas primíparas, como seria de esperar. Segundo a literatura esta situação verifica-se principalmente por dois motivos: crescimento, e maturidade da glândula mamária (Wathes *et al*, 2007; Lang, Iverson, & Bowen, 2012). Em relação ao crescimento, as novilhas têm o seu primeiro parto, por norma, aos 24 meses (85% do peso adulto), e como tal ainda não

atingiram a completa maturidade, dado que em média a mesma ocorre no final ou início da segunda e terceira lactação, respectivamente. Assim, parte da energia ingerida é mobilizada para o crescimento. Associado a este crescimento há comparativamente maiores níveis circulantes de *insulin-like growth factor-I (IGF-I)* nas vacas primíparas do que em múltiparas, e este factor está negativamente relacionado com a produção de leite dado que, intervém na mobilização de parte da energia para outros tecidos que não a glândula mamária (Wathes *et al.*, 2007). Por outro lado, à medida que a vaca faz mais lactações a glândula mamária aumenta na sua capacidade de reserva e no número de células secretoras (Lang *et al.*, 2012). Por estes motivos a produção de leite é normalmente menor em vacas primíparas do que em vacas múltiparas.

A prevalência média de vacas com CSC nas explorações é relativamente elevada 51% (18 a 92%), estes dados estão de acordo com os de Geishauser *et al.*, (2001). Por outro lado está muito acima dos 29,5% apresentados por Suthar *et al.*, (2013) num estudo que englobava Portugal. As possíveis razões para prevalência elevada de CSC que se verificam, o manejo em geral na exploração, CC dos animais ao parto, a própria estação do ano, a genética e o número de lactações (Duffield, 2000). Dado a CSC ser uma doença que está associada a BEN, o simples facto de aumentar a frequência de alimentação (empurrar a comida mais vezes) predispõe as vacas a uma maior IMS e diminui a possibilidade de entrarem em BEN mais pronunciados. A estação do ano, e neste caso o verão, é um factor que também predispõe as vacas a desenvolverem CSC, dado que, as temperaturas mais elevadas conduzem a uma diminuição da IMS, que muitas vezes está associada também a alteração da qualidade das forragens (Geishauser *et al.*, 2001). Além disso, a fertilidade nos meses de verão é mais baixa (Thatcher, Flamenbaum, Block, & Bilby, 2010; Friedman, Voet, Reznikov, Wolfenson, & Roth, 2014) comparativamente com outros meses do ano, e assim sendo, muitas das vacas ficaram gestantes nos meses subsequentes a esta época, e terão o parto no verão seguinte. No entanto, na maioria dos casos, essas vacas têm períodos de secagem mais longos o que lhes possibilita um ganho de CC mais exacerbado (Duffield, 2000), que é um factor predisponente para CSC (Marutsova *et al.*, 2015). Por último, e segundo alguns autores o consumo de forragens mal fermentadas e com concentrações elevadas de agentes cetogénicos pode predispor a CSC (Oetzel, 2010) situação que acontece muitas vezes no final dos silos, que por norma também coincidem com alturas de maior calor (verão/outono).

Pela análise estatística constatou-se que as vacas múltiparas têm uma tendência para terem um TB mais elevado do que as vacas primíparas ($p = 0,05$). Este facto não faz sentido, dado que, o TB tende a diminuir 0,2% ao ano, desde a primeira à quinta lactação

(Heinrichs *et al.*, 2005). A diferença dos TB entre múltíparas e primíparas dever-se-á muito provavelmente a um aumento da mobilização de reservas corporais no início da lactação, que é consequentemente responsável por um aumento no TB (Duffield, 2000; Heinrichs *et al.*, 2005). Esta situação é sustentada pelo facto de existir uma grande prevalência de CSC nas vacas múltíparas. O que significa que estão em BEN, e portanto têm que mobilizar as reservas corporais, para suportar as necessidades energéticas (no pós parto e pico de lactação). Assim, e por consequência, aumentam os ácidos gordos em circulação, que posteriormente são excretados na glândula mamária (Heinrichs *et al.*, 2005). Além disso, um dos precursores que intervém na síntese de gordura é o β -Hidroxibutirato que em casos de CSC normalmente está elevado (Duffield, 2000). Outra causa possível seria o facto das vacas primíparas estarem em crescimento. Isto porque, como um dos nutrientes que intervém na síntese *de novo* da gordura do leite é a glucose (como agente redutor) (Palmquist, 2006), se parte dela estiver a ser usada para o crescimento, como ocorre nas vacas primíparas, a disponibilidade de glucose para a síntese *de novo* de gordura no leite seria menor. No entanto, não foi encontrado qualquer estudo que corrobore esta teoria.

De acordo com os resultados deste estudo apurou-se que há uma relação estatisticamente significativa entre o risco das vacas desenvolverem CSC e a produção de leite ($p = 0,008$). Esta situação ocorre porque a vaca não é capaz de suportar a saída de energia (leite), através da entrada de energia (IMS) (Ingvarsen *et al.*, 2003; Mulligan & Doherty, 2008). Isto acontece porque ao longo das décadas as vacas Holstein-Frísia foram seleccionadas maioritariamente para a produção de leite, não tendo em conta outros aspectos, como capacidade de ingestão, de modo a suprimir as suas necessidades energéticas (Mulligan & Doherty, 2008). Posto isto, se a vaca não conseguir suprimir as suas necessidades energéticas entrará em BEN e a mobilização de reservas corporais conduzirá a um aumento dos AGNE, que são parcialmente oxidados dando origem a excesso de corpos cetónicos e conduzindo assim a vaca a CSC. Esta última situação é ainda mais marcante nas vacas Holstein-Frísia (Wathes *et al.*, 2007), que era a raça predominante no estudo. No entanto, a hipótese de que as vacas com altas produções têm mais predisposição a doenças metabólicas é provável que seja tão falso como afirmar que as vacas com baixas produções são menos susceptíveis às mesmas doenças. Por outras palavras, uma vaca com uma produção relativamente baixa pode ter maior predisposição a sofrer duma doença de produção, se for exposta a um ou vários factores relevantes (limitada IMS e/ou stress ambiental), do que uma vaca com um potencial para uma alta produção leiteira não exposta ao mesmo problema. Ou seja, é tudo uma questão de balanço entre entrada e saída de energia (Ingvarsen *et al.*, 2003; Mulligan & Doherty, 2008).

Neste estudo verificou-se que não há qualquer relação entre a paridade e o risco de desenvolver CSC ($p = 0,227$). Isto é, as vacas múltiparas não têm um risco maior de desenvolverem CSC em relação às vacas primíparas. Estes resultados vão contra outros estudos (Dohoo & Martin, 1984; Wathes *et al.*, 2007). No entanto, se ajustarmos as primíparas e as múltiparas às mesmas produções leiteiras o efeito passa a não ser significativo. Ou seja, o que parece explicar a variação é a produção de leite e não a paridade dos animais.

No nosso estudo existiam explorações a usar bolo intra-ruminal de monensina. Assim, foi-se averiguar se existia alguma diferença entre o uso de bolo de monensina e a prevalência de CSC, concluindo-se que não havia qualquer relação ($p = 0,943$). A possível justificação para esta situação é o facto de as explorações que usam monensina aplicarem o dispositivo a todas as vacas e não apenas aos animais de risco (vacas com elevada CC na secagem, diagnósticos de gestações gemelares, períodos de secagem longos e vacas com varias lactações). Assim o efeito da monensina poder estar diluído. (Duffield, 2000).

A relação existente entre a monensina e o TB também não se verificou neste estudo ($p = 0,336$), isto é, aquando da suplementação de monensina o teor butirico tenderia que diminuir (Duffield *et al*, 2003). Estes resultados vão ao encontro dos obtidos por Lean *et al*, (1994) e Duffield *et al*, (1999) citado por Duffield *et al*, (2003). Contudo, segundo o estudo realizado por Duffield *et al*, (2003) esta relação existe, e pode dever-se a uma alteração da microbiota ruminal, que conduz a um aumento da produção de propionato, em prol de acetato (primeiro precursor da síntese de gordura do leite). Ou por outro lado, essa depressão do TB pode ser mediada pela interferência da monensina no processo de biohidrogenação dos ácidos gordos de cadeia longa. No entanto, esta relação depende da quantidade de HCFF na dieta, dado que quando estão abaixo de 40% não ocorre depressão do TB, mas acima desse valor o contrário verifica-se. A possível justificação para esse facto é que quando temos um menor conteúdo em HCFF, temos mais conteúdo em fibra. Portanto, dessa forma estaremos a promover a mastigação e salivação que permite manter o pH ruminal mais elevado e adequado, influenciando assim a microbiota responsável pela biohidrogenação dos ácidos gordos de cadeia longa. Desta forma há uma diminuição da produção de ácidos gordos trans e consequentemente há um aumento da produção de gordura no leite (Bauman & Griinari, 2003).

A relação entre o TU e o TP e TB, obtidos neste estudo, corroboram os resultados apresentados por (Johnson & Young, 2003), que utiliza os valores de MUN. Contudo outros estudos afirmam que a relação entre TU e o TP do leite não existe (Broderick & Clayton,

1997). Por outro lado Dhali *et al*, (2006) utilizando os valores de ureia no leite (MU) verifica uma relação positiva entre a MU e o TP. No entanto, não nos podemos esquecer que para a realização desta relação no presente estudo, só foram tidas em conta as vacas entre os 5 e os 100 DEL. Isto porque, quando analisamos a relação entre o TU e o TP do leite do rebanho (dados de qualidade de leite tanque), verificamos que a relação é positiva entre ambas, as variáveis ($p = 0,01$). O que está de acordo com os resultados de Dhali *et al*, (2006).

Aspectos metodológicos

A estanquicidade da sonda parece não interferir com os valores de pH ruminal e está de acordo com os resultados de Geishauser *et al*, (2012), Shen, Chai, Song, Liu, & Wu, (2012) e Steiner *et al*, (2014). No entanto, convém referir que aquando da introdução, a sonda deve estar completamente fechada, de modo a impedir que a saliva entre. Pela experiência obtida durante o estudo, verificou-se que há um aumento da produção de saliva durante o processo de introdução da sonda, situação complacente com a observada por Steiner *et al*, (2014). Portanto se a sonda estivesse aberta poderia certamente haver contaminação, uma vez que o processo de entrada é relativamente mais lento em comparação ao da retirada da sonda (≈ 20 a 40 seg vs 2 seg). Assim sendo, mesmo que a sonda esteja aberta aquando da retirada, a contaminação e a influência sobre o valor do pH ruminal é mínima já que o processo é rápido (Geishauser *et al*, 2012). Da mesma forma que Duffield *et al*, (2004), aquando da retirada da sonda e previamente à medição foram excluídos os primeiros 5 a 10 ml de fluido, de forma a diminuir a probabilidade da contaminação da saliva.

Pela análise estatística atesta-se que há uma tendência ($p = 0,09$) para que a quantidade de fluido influencie os valores de pH. Esta situação pode justificar-se pelo facto da sonda por vezes não atingir o local pretendido e por essa razão o fluido ruminal que é colhido, não é o mais representativo de todo o fluido ruminal, além de que pode conter maior proporção de saliva (Geishauser *et al*, 2012). Segundo Shen *et al*, (2012) além do exposto anteriormente o tempo que tardamos a recolher a amostra e a profundidade a que a sonda é colocada também pode influenciar o pH medido, bem como a quantidade de fluido colhido. O mesmo autor advoga que a experiência do manuseador da sonda também é um ponto importante tanto na quantidade de fluido recolhido como no valor final do pH ruminal obtido. Segundo Dirksen & Smith, (1987) o local a partir do qual deve ser realizada a colheita é o saco ventral do rúmen. Contudo, segundo Duffield *et al*, (2004) e Shen *et al*, (2012) a melhor zona é a central, por diminuir a contaminação com a saliva. Para verificar

se a sonda estava realmente nestes locais seria necessário recorrer a meios imagiológicos, mas tal não é exequível em condições de campo.

Análise dos resultados do leite de tanque

A análise estatística que se efectuou entre os resultados do leite de tanque e os valores de pH ruminal obtidos das vacas em estudo, têm que ser interpretados com alguma cautela. Isto porque, as vacas deste estudo não são representativas de todo o rebanho, dado que a amostragem só inclui vacas entre os 5 e 100 DEL. No entanto, realizou-se essa análise de forma a perceber se se podia extrapolar alguma relação a partir das vacas da amostragem. Portanto, mesmo considerando que não há qualquer relação entre o pH ruminal e os DEL, mais estudos teriam que ser realizados, para averiguação da veracidade dessas relações. Convém expor que não se obteve qualquer relação entre as variáveis gerais do leite de tanque e o pH médio das explorações. Assim, as únicas relações indirectamente obtidas através dos valores de pH ruminal foram as amplitudes, do próprio pH ruminal.

Da recolha dos dados gerais das explorações tem-se a percepção de que, em geral, a produção de leite é baixa. Esta situação, muito provavelmente, é reflexo do efeito do *stress* por calor, uma vez que predispõe as vacas a uma menor apetência ao alimento e além disso faz com que parte da energia ingerida seja utilizada para os mecanismos de dissipação do calor (West, 2003). Além destes aspectos, a média de DEL mais elevada contribui também para a menor produção. Tal acontece porque, segundo Nordlund, (1993) citando Grusenmeyer, (1983) por cada dia que subimos acima dos 150 DEL, a produção desce 0,07 kg/vaca/dia. Esta redução também foi constatada no nosso estudo, apesar de não ser estatisticamente significativa ($p = 0,09$).

Por outro lado, a elevada contagem média de células somáticas que se verificou pode influenciar negativamente a produção. Segundo Hagnestam-Nielsen, Emanuelson, Berglund, & Strandberg, (2009) valores no tanque de 500.000 células somáticas pode representar perdas de produção na ordem dos 3 a 9% e 4 a 18% em primíparas e multíparas, respectivamente. De um modo geral pode-se afirmar que sempre que a CCS dobra a partir do valor considerado normal (50.000) a produção diminui 0,5 kg. Ou seja, para uma contagem média de 370.000 células somáticas, as perdas calculadas seriam de 1,85 kg de leite vaca/dia. A elevada CCS em algumas explorações, pode dever-se a baixa imunidade (micotoxinas/ períodos de transição mal efectuados), a temperaturas mais propícias para o desenvolvimento de micro-organismos causadores de mastites, a BEN (baixa IMS), a más condições do ambiente (camas), a más práticas de manejo (limpeza dos parques), a sobrepopulação e a má rotina de ordenha (Lambertz, Sanker, & Gauly, 2014; Krawczel & Grant, 2009).

Ao analisarmos o teor de ureia no leite de tanque, constatamos que os valores médios do TU estão um pouco acima das recomendações (11 e 17 mg/dl), segundo Baker *et al.*, (1995). Isto porque, se convertermos os 225 ppm, médios do leite de tanque, para mg/dl verificamos que corresponde a 22,5 mg/dl. Assim, se analisarmos este facto à luz da Tabela 6, e sabendo que o TP médio de leite de tanque é de 3,21 %, chegamos à conclusão que podemos estar perante um excesso de proteína degradável ou solúvel, ou então perante um défice HCFF. De acordo com esta interpretação a exploração 2 apresentaria um caso sério de excesso de proteína degradável ou solúvel, ou então um défice em HCFF. Em contrapartida a exploração 11 teria uma dieta bem balanceada.

Quando analisamos a qualidade do leite de tanque das varias explorações constatou-se que havia uma relação positiva entre o RPG e a ApH ($p < 0,05$). Segundo (Looper *et al.*, 2001) quando o rácio de TP/TB é maior que 0,95, podemos estar perante uma caso de SDG. Portanto, se aceitarmos que ApH é um bom indicador para a prevalência de ARSA numa exploração, a conjugação deste com o RPG poderá ser um bom barómetro para avaliar a presença do SDG nas explorações. Convém realçar que quando testado o RPG com o pH ruminal médio de cada exploração não se obteve qualquer relação.

Verificou-se que havia uma relação negativa entre o TP do leite de tanque e a PSPS19 ($p = 0,013$) e uma relação positiva com a ApH ($p = 0,037$). A possível explicação para a primeira relação é que quando aumentamos a PSPS19, reduzimos a quantidade de HCFF, que são fundamentais para a síntese proteica por parte das bactérias (Nocek & Tamminga, 1991). Conduzindo assim a uma diminuição do teor proteico no leite (Palmquist *et al.*, 1993). Por outro lado, quando a ApH é maior, muito provavelmente estamos perante casos de ARSA na exploração. E assim sendo maiores quantidades de silagem de milho e HCFF, que são fontes importantes de aporte de energia às bactérias.

8.1. Algumas limitações do estudo

Neste estudo, de modo a compreender melhor os resultados entre o pH ruminal e a dieta dever-se-ia ter acesso às formulações alimentares, com todos os seus constituintes e todas as análises químicas dos alimentos. Isto para posterior análise do potencial acidogénico da dieta (Rustomo *et al.*, 2006) e o peFDN (Mertens, 1997). Também teria sido interessante, em conjunto com a medição da temperatura ambiente, ter dados sobre a humidade relativa uma vez que assim seria possível calcular o índice temperatura – humidade (THI), que é o índice mais preciso na aferição do *stress* térmico nas vacas (West, 2003).

O estudo também deveria ter sido realizado num curto espaço de tempo para diminuir possíveis variabilidades entre explorações e seria benéfico repetir-se o estudo nos meses de Inverno para diminuir o impacto do *stress* térmico. Além disso, seria igualmente interessante realizar uma amostragem maior por exploração, por forma a incluir também vacas com dias em leite mais elevados. Seria igualmente relevante avaliar o tempo que as vacas amostradas passavam a comer, a ruminar e deitadas. A avaliação dos ácidos gordos trans presentes no líquido ruminal seria interessante para posteriores relações com pH ruminal e teores de gordura no leite. Além disso, para este tipo de estudo dever-se-ia ter utilizado um método de medição quantitativa do β HB sanguíneo (e.g. Xceed®).

9. Conclusão

Pelo corolário da conjuntura actual, término das quotas leiteiras e globalização do mercado leiteiro, não se avizinham épocas resplandecentes. Todavia, para fazer face a estas vicissitudes há que reduzir os custos de produção, o manejo reprodutivo, a qualidade de leite, o manejo alimentar, o manejo do ambiente, o estado hígido e o bem-estar das vacas leiteiras. Assim sendo, algumas ilações deste estudo devem ser inferidas.

Sendo o objectivo final obter silagens de melhor qualidade, digestibilidade e estabilidade a produção de silagens requer melhorias, tanto ao nível do corte como no modo de acondicionamento e conservação. O processo de ensilagem de erva é o que carece de maior padronização.

Os subprodutos quando incluídos na alimentação animal reduzem os custos de produção, no entanto, se a sua conservação não for adequada, como acontece na massa de cerveja, o seu uso pode até ser prejudicial.

A elaboração de TMR para vacas leiteiras deve ser realizada com alguma minuciosidade, de modo a controlar os tempos de mistura, e além disso, a quantidade dos vários tipos de alimento adicionados. Tudo isto, de modo a ter uma mistura final mais padronizada e com a distribuição das diferentes percentagens de partículas, segundo os padrões recomendados.

A melhoria dos mecanismos de arrefecimento dos pavilhões deverá ser tida em consideração dado que, neste estudo verificou-se que, na maioria das explorações estavam reunidas as condições necessárias para que as vacas padecessem de *stress* térmico (temperaturas superior a 25 °C). Além disso, a relação existente entre o aumento da temperatura e a diminuição do pH ruminal, vem corroborar ainda mais a necessidade do controlo da temperatura dentro dos pavilhões.

O pH ruminal está directamente relacionado com o conteúdo em alimento composto complementar e a quantidade de silagem de milho. Logo o uso destes alimentos na dieta

deveriam ser balanceados correctamente, de forma a diminuir o risco de ARSA. No entanto, devido à limitada informação sobre a prevalência desta doença e a natureza não específica de muitas das suas manifestações, a importância da ARSA não é muito valorizada (Plaizier *et al.*, 2008).

A PSPS19 parece ser um bom indicador da saúde ruminal e da adequabilidade do conteúdo em fibra da dieta.

A relação entre o PSPS1,18 e a produção de leite tem que ser melhor investigada, de modo a perceber se existe mesmo uma relação positiva entre ambas as variáveis.

A CSC nas explorações apresenta um nível de prevalência alarmante. Por isso, é necessário intervir nas questões de manejo alimentar (pré e pós-parto), bem como na CC dos animais, de modo a controlar melhor o balanço energético. O uso de Monensina por rotina não parece ser a solução para os níveis elevados de CSC, podendo até encarecer muito a produção sem se obter resultados significativos. Assim, o uso de bolo de libertação lenta de monensina deve ser racionalizado e aplicado somente às vacas de risco.

É necessário realizar mais estudos sobre a ARSA nas explorações portuguesas para se tentar perceber qual será o real impacto na produção e na saúde e bem-estar animal.

Assim sendo, o uso de metodologias praticas e objectivas nomeadamente, PSPS, sonda de recolha de pH ruminal e medidor de pH, meios de aferição dos teores de β HB, meios de mensuração da temperatura ambiente e dos alimentos e dados da qualidade de leite, são cruciais para um controlo rigoroso e adequado do estado hígido e produtivo das vacas leiteiras.

Em suma, um dos grandes desafios da produção leiteira nacional e mundial, assenta na avaliação da performance e monitorização das explorações, por parte dos nutricionistas, veterinários e produtores, tendo em conta a aplicabilidade do conceito “medicina da produção”. Pois, nenhum indicador ou ferramenta simples, única e isolada, quer no espaço quer no tempo, serve para diagnóstico, resolução, controlo e monitorização das explorações leiteiras.

10. Referências bibliográficas

- Allen, M. S. (1997). Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *Journal of Dairy Science*, 80, 1447–62.
- Alsemgeest, S. P., Kalsbeek, H. C., Wensing, T., Koeman, J. P., Van Ederen, M., & Gruys, E. (1994). Concentrations of serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin (HP) as parameters of inflammatory diseases in cattle. *The Veterinary Quarterly*, 16, 21–3.
- Andersen, J. B., Sehested, J., & Ingvarsen, K. L. (1999). Effect of Dry Cow Feeding Strategy on Rumen pH, Concentration of Volatile Fatty Acids and Rumen Epithelium Development. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science*, 49 (3), 149–155.
- Arzola-Alvarez, C., Bocanegra-Viezca, J., Murphy, M. R., Salinas-Chavira, J., Corral-Luna, Romanos, Rodríguez-Muela, C. (2010). Particle size distribution and chemical composition of total mixed rations for dairy cattle: water addition and feed sampling effects. *Journal of Dairy Science*, 93, 4180–8.
- Baker, L. D., Ferguson, J. D., & Chalupa, W. (1995). Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 78, 2424–34.
- Barmore, J. (2002). Fine-tuning the ration mixing and feeding of high producing herds. *Tri-State Dairy Nutrition Conference*, Fort Wayne. 103–126.
- Baset, M. A., Huque, K. S., Sarker, N. R., Hossain, M. M., & Islam, M. N. (2010). Evaluation of milk urea nitrogen of dairy cows reared under different feed bases in the different seasons. *Journal of Science Foundation*. 97–110.
- Bauman, D. E., & Griinari, J. M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 23, 203–27.
- Beauchemin, K., Farr, B. I., Rode, L. M., & Schaalje, G. B. (1994). Effects of alfalfa silage chop length and supplementary long hay on chewing and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 77 (5), 1326–39.
- Beauchemin, K. a, & Yang, W. Z. (2005). Effects of physically effective fiber on intake, chewing activity, and ruminal acidosis for dairy cows fed diets based on corn silage. *Journal of Dairy Science*, 88 (6), 2117–29.
- Beauchemin, K., Yang, W. Z., & Rode, L. M. (2003). Effects of particle size of alfalfa-based dairy cow diets on chewing activity, ruminal fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science*, 86 (2), 630–43.
- Beecher, M., Buckley, F., Waters, S. M., Boland, T. M., Enriquez-Hidalgo, D., Deighton, M. H., Lewis, E. (2014). Gastrointestinal tract size, total-tract digestibility, and rumen microflora in different dairy cow genotypes. *Journal of Dairy Science*, 97 (6), 3906–3917.
- Bessa, R. J., Santos-Silva, J., Ribeiro, J. M. ., & Portugal, A. (2000). Retículo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*, 63 (3), 201–211.

- Bhandari, S. K., Ominski, K. H., Wittenberg, K. M., & Plaizier, J. C. (2007). Effects of chop length of alfalfa and corn silage on milk production and rumen fermentation of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90 (5), 2355–66.
- Boessinger, M., Hug, H., & Wyss, U. (2005). Les drêches de brasserie, un aliment protéique intéressant. Disponible em: http://bier.ch/wpcontent/uploads/sites/2/2015/04/f_malztreber.pdf
- Bolsen, K. K., & Pollard, G. V. (2004). Feed Bunk Management to Maximize Feed Intake. In *Advances in Dairy Technology* (pp. 227–238). Disponible em: <http://www.wcds.ca/proc/2004/Manuscripts/227Bolsen.pdf>
- Bouraoui, R., Lahmar, M., Majdoub, A., Djemali, M., & Belyea, R. (2002). The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Animal Research*.
- Bramley, E., Lean, I. J., Fulkerson, W. J., Stevenson, M., Rabiee, R., & Costa, N. D. (2008). The definition of acidosis in dairy herds predominantly fed on pasture and concentrates. *Journal of Dairy Science*, 91 (1), 308–21.
- Broderick, G., & Clayton, M. K. (1997). A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science*, 80 (11), 2964–71.
- Cabrita, R. J., Bessa, R. J. B., Alves, S. P., Dewhurst, R. J., & Fonseca, J. M. (2007). Effects of dietary protein and starch on intake, milk production, and milk fatty acid profiles of dairy cows fed corn silage-based diets. *Journal of Dairy Science*, 90 (3), 1429–1439.
- Calberry, J. M., Plaizier, J. C., Einarson, M. S., & McBride, B. W. (2003). Effects of replacing chopped alfalfa hay with alfalfa silage in a total mixed ration on production and rumen conditions of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86 (11), 3611–9.
- Callaway, T. R., Martin, S., Wampler, J. L., Hill, N. S., & Hill, G. M. (1997). Malate content of forage varieties commonly fed to cattle. *Journal of Dairy Science*, 80 (8), 1651–5.
- Calsamiglia, S., Ferret, a., & Devant, M. (2002). Effects of pH and pH fluctuations on microbial fermentation and nutrient flow from a dual-flow continuous culture system. *Journal of Dairy Science*, 85 (3), 574–579.
- Caroli, a M., Chessa, S., & Erhardt, G. J. (2009). Invited review: milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*, 92 (11), 5335–5352.
- Carrier, J., Stewart, S., Godden, S., Fetrow, J., & Rapnicki, P. (2004). Evaluation and use of three cowside tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. *Journal of Dairy Science*, 87 (11), 3725–3735.
- Chan, P., West, J., Bernard, J., & Fernandez, J. (2005). Effects of dietary cation-anion difference on intake, milk yield, and blood components of the early lactation cow. *Journal of Dairy Science*, 88 (12), 4384–92.
- Chase, L. E. (2007). Climate Change Impacts on Dairy Cattle. *Climate Change and Agriculture: Promoting Practical and Profitable Responses*, 17–23.
- Chiquette, J. (2009). Evaluation of the protective effect of probiotics fed to dairy cows during a subacute ruminal acidosis challenge. *Animal Feed Science and Technology*, 153 (3-4), 278–291.

- Chung, Y.H., Martinez, C. M., Brown, N. E., Cassidy, T. W., & Varga, G. (2009). Ruminal and blood responses to propylene glycol during frequent feeding. *Journal of Dairy Science*, 92 (9), 4555–4564.
- Constable, P. D., Hoffsis, G. F., Rings, D. M., (1990a). The reticulorumen: normal and abnormal motor function. Part I. Primary contraction cycle. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, (pp. 1008-1014).
- Constable, P. D., Hoffsis, G. F., Rings, D. M., (1990b). The reticulorumen: normal and abnormal motor function. Part II. Secondary contraction cycles, Rumination, and Esophageal Groove Closure. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, (pp. 1169-1174).
- Cook, N. B., Nordlund, K. V., & Oetzel, G. R. (2004). Environmental Influences on Claw Horn Lesions Associated with Laminitis and Subacute Ruminal Acidosis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 87.
- Cooper, R. J., Klopfenstein, T. J., & Stock, R. (1999). Effects of Imposed Feed Intake Variation on Acidosis and Performance of Finishing Steers.
- Cunningham, G. J., Bradley, G. K. (2008). Secreções do trato gastrointestinal. *Tratado de Fisiologia Veterinária*. (4^ª Ed.). (pp. 332-340). Rio de Janeiro, Elsevier.
- Dann, H. M., Morin, D. E., Bollero, G. a, Murphy, M. R., & Drackley, J. K. (2005). Prepartum intake, postpartum induction of ketosis, and periparturient disorders affect the metabolic status of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88 (9), 3249–64.
- DeVries, T. J., Beauchemin, K. a, Dohme, F., & Schwartzkopf-Genswein, K. S. (2009). Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: feeding, ruminating, and lying behavior. *Journal of Dairy Science*, 92 (10), 5067–78.
- Dhali, A., Mehla, R. K., Sirohi, S. K., Mech, A., & Karunakaran, M. (2006). Monitoring feeding adequacy in dairy cows using milk urea and milk protein contents under farm condition. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19 (12), 1742–1748.
- Dirksen, G., & Smith, M. C. (1987). Acquisition and analysis of bovine rumen fluid. *In Bovine practitioner* (pp. 108–116).
- Dohme, F., DeVries, T. J., & Beauchemin, K. a. (2008). Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: ruminal pH. *Journal of Dairy Science*, 91 (9), 3554–67.
- Dohoo, I. R., & Martin, S. W. (1984). Subclinical ketosis: prevalence and associations with production and disease. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 48 (1), 1–5.
- Drackley, J. K., Donkin, S. S., & Reynolds, C. K. (2006). Major advances in fundamental dairy cattle nutrition. *Journal of Dairy Science*, 89 (4), 1324–1336.
- Driehuis, F. (2013). Silage and the safety and quality of dairy foods: A review. *Agricultural and Food Science*, 22 (1), 16–34.
- Duffield, T. (2000). Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 16, 22.

- Duffield, T., Bagg, R., Kelton, D., Dick, P., & Wilson, J. (2003). A field study of dietary interactions with monensin on milk fat percentage in lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 86 (12), 4161–6.
- Duffield, T. F., LeBlanc, S., Bagg, R., Leslie, K., Ten Hag, J., & Dick, P. (2003). Effect of a monensin controlled release capsule on metabolic parameters in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86 (4), 1171–1176.
- Duffield, T. F., Lissemore, K. D., McBride, B. W., & Leslie, K. E. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science*, 92 (2), 571–80.
- Duffield, T. F., Sandals, D., Leslie, K. E., Lissemore, K., McBride, B. W., Lumsden, J. H., Bagg, R. (1998). Efficacy of monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81 (11), 2866–2873.
- Duffield, T., Plaizier, J. C., Fairfield, a, Bagg, R., Vessie, G., Dick, P., McBride, B. (2004). Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87 (1), 59–66.
- Eastridge, M. L. (2006). Major advances in applied dairy cattle nutrition. *Journal of Dairy Science*, 89 (4), 1311–1323.
- European Medicines Agency (2013). European public MRL assessment report (EPMAR) Monensin (modification of MRLs). disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2013/02/WC500138506.pdf
- Enemark, J. M. D. (2008). The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): a review. *Veterinary Journal*, 176 (1), 32–43.
- Enemark, J. M. D., Jørgensen, R. J., Enemark, P. S., (2002). Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen rumen acidosis: A review. *Veterinarija ir Zootechnika*. 20 (40).
- Enemark, J. M. D., Jørgensen, R. J., & Kristensen, N. B. (2004). An evaluation of parameters for the detection of subclinical rumen acidosis in dairy herds. *Veterinary Research Communications*, 28 (8), 687–709.
- Fairfield, M., Plaizier, J. C., Duffield, T. F., Lindinger, M. I., Bagg, R., Dick, P., & McBride, B. W. (2007). Effects of prepartum administration of a monensin controlled release capsule on rumen pH, feed intake, and milk production of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90 (2), 937–45.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2015). Dairy production and products: Milk production. Acedido em May 25, 2015, disponível em: <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milk-production/en/#.VWNL6U9Vikp>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2013). Agricultural Outlook 2013-2022. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2014-en
- Firkins, J. L., Hristov, N., Hall, M. B., Varga, G., & St-Pierre, N. R. (2006). Integration of ruminal metabolism in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89.
- Friedman, E., Voet, H., Reznikov, D., Wolfenson, D., & Roth, Z. (2014). Hormonal treatment before and after artificial insemination differentially improves fertility in

- subpopulations of dairy cows during the summer and autumn. *Journal of Dairy Science*, 97 (12), 7465–7475.
- Fuhrman, T. (1993). Production Medicine In Large Dairy Herds. In Management (pp. 157–166). Disponível em: <http://www.wdmc.org/1993/93WDMC167-176.pdf>
- Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral (2015). Leite à produção. Acedido em Maio de 25, 2015, disponível em: <http://www.gpp.pt/cot/>
- Galligan, D. (2006). Economic assessment of animal health performance. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 22 (1), 207–27.
- Garry, F., Kallfelz, A. F. (1983). Clinical aspects of dietary buffers for dairy cattle. *The compendium on continuing education for the practicing veterinarian*, 5 (3), (pp.159-166).
- Garrett, E. F., Pereira, M. N., Nordlund, K. V, Armentano, L. E., Goodger, W. J., & Oetzel, G. R. (1999). Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82 (6), 1170–8.
- Gay, S. W. (2009). Natural Ventilation For Freestall Dairy Barns. *Virginia Polytechnic Institute and State University*. Virginia: 442-763. Disponível em: https://pubs.ext.vt.edu/442/442-763/442-763_pdf.pdf
- Geishauser, T., Leslie, K., Kelton, D., & Duffield, T. (2001). Monitoring for subclinical ketosis in dairy herds. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet*, 23 (8), 65–71. Disponível em: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Monitoring+for+Subclinical+Ketosis+in+Dairy+Herds#0>
- Geishauser, T., Linhart, N., Neidl, A., & Reimann, A. (2012). Factors associated with ruminal pH at herd level. *Journal of Dairy Science*, 95 (8), 4556–67.
- George, L. W., Divers, T. J., Ducharme, N., & Welcome, F. L. (2008). *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle* (2^a ed.). (pp 590-603). Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Goad, D. W., Goad, C. L., & Nagaraja, T. G. (1997). Ruminal Microbial and Fermentative Changes Associated with Experimentally Induced Subacute Acidosis in Steers. *Journal of Animal Science*, 234–241.
- González, F., Durr, J., & Fontanelli, R. (2001). Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. *Biblioteca Setorial da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS*.
- González, L., Tolkamp, B. J., Coffey, M. P., Ferret, & Kyriazakis, I. (2008). Changes in feeding behavior as possible indicators for the automatic monitoring of health disorders in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91 (3), 1017–1028.
- Gozho, G. N., Krause, D. O., & Plaizier, J. C. (2007). Ruminal lipopolysaccharide concentration and inflammatory response during grain-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90 (2), 856–66.
- Gozho, G. N., Plaizier, J. C., Krause, D. O., Kennedy, D., & Wittenberg, K. M. (2005). Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. *Journal of Dairy Science*, 88 (4), 1399–403.
- Grant, R. J. (1994). Influence of corn and sorghum starch on the in vitro kinetics of forage fiber digestion. *Journal of Dairy Science*, 77 (6), 1563–1569.

- Grant, R. J., Colenbrander, V. F., & Mertens, D. R. (1990). Milk Fat Depression in Dairy Cows: Role of Silage Particle Size. *Journal of Dairy Science*, 73 (7), 1834–1842.
- Grant, R. J., & Mertens, D. R. (1992). Influence of buffer pH and raw corn starch addition on in vitro fiber digestion kinetics. *Journal of Dairy Science*, 75 (10), 2762–2768.
- Grant, R., & Miner, W. H. (2004). Taking Advantage of Natural Dairy Cow Behavior: Focus on Feeding and Resting.
- Gröhn, Y. T., & Bruss, M. L. (1990). Effect of diseases, production, and season on traumatic reticuloperitonitis and ruminal acidosis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 73 (9), 2355–63.
- Grönlund, U., Sandgren, C., & Waller, K. P. (2005). Original article Haptoglobin and serum amyloid A in milk from dairy cows with chronic sub-clinical mastitis, 36, 191–198.
- Grummer, R. R. (1995). Impact of Changes in Organic Nutrient Metabolism Feeding the Transition Dairy Cow [abstract]. *American Society of Agronomy*.
- Grummer, R. R. (2008). Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. *Veterinary Journal*, 176 (1), 10–20.
- Gyles, C. L. (2007). Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *Journal of Animal Science*, 85 (13), 45–62.
- Hagnestam-Nielsen, C., Emanuelson, U., Berglund, B., & Strandberg, E. (2009). Relationship between somatic cell count and milk yield in different stages of lactation. *Journal of Dairy Science*, 92 (7), 3124–3133.
- Heinrichs, J. (2013). Penn State Particle Separator - The Forage and TMR Particle Separator was designed to help in determining the correct forage particle length needed to improve ruminant nutrition. Disponível em: <http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrition/forages/forage-quality-physical/separator>
- Heinrichs, J., Jones, C., & Bailey, K. (2005). Milk Components: Understanding the Causes and Importance of Milk Fat and Protein Variation in Your Dairy Herd. Pennsylvania. Disponível em: <http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrition/nutrition-and-feeding/diet-formulation-and-evaluation/milk-components-understanding-the-causes-and-importance-of-milk-fat-and-protein-variation-in-your-dairy-herd>
- Hosseinkhani, a, DeVries, T. J., Proudfoot, K. L., Valizadeh, R., Veira, D. M., & Von Keyserlingk, M.G. (2008). The effects of feed bunk competition on the feed sorting behavior of close-up dry cows. *Journal of Dairy Science*, 91 (3), 1115–21.
- Hutjens, M. F. (1999). TMR / Feed Bunk Management. Disponível em: <http://livestocktrail.illinois.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=547>
- Huzzey, J. M., DeVries, T. J., Valois, P., & Von Keyserlingk, M. G. (2006). Stocking density and feed barrier design affect the feeding and social behavior of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89 (1), 126–33.
- Instituto Nacional de Estatística (2013). Estatísticas Agrícolas 2013. Disponível em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=139722&PUBLICACOESmodo=2
- Ingvartsen, K. L., Dewhurst, R. J., & Friggens, N. C. (2003). On the relationship between lactational performance and health : is it yield or metabolic imbalance that cause

production diseases in dairy cattle ? A position paper. *Livestock Production Science*. 277–308.

Instituto Português do Mar e da Atmosfera (2014). Boletim Climatológico Sazonal Verão 2014. Acedido em junho 20, 2015, disponível em:

http://www.ipma.pt/resources.www/docs/im.publicacoes/edicoes.online/20140909/AwkSnFWQkYCpCpsSyUuU/cli_20140601_20140831_pcl_sz_co_pt.pdf

Ishler, V. (1996). From Feed To Milk: Understanding Rumen Function. Disponível em: <http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrition/nutrition-and-feeding/rumen-function/from-feed-to-milk-understanding-rumen-function>.

Itle, J., Huzzey, J. M., Weary, D. M., & von Keyserlingk, M. G. (2015). Clinical ketosis and standing behavior in transition cows. *Journal of Dairy Science*, 98 (1), 128–134.

Jenkins, T. C., & McGuire, M. (2006). Major advances in nutrition: impact on milk composition. *Journal of Dairy Science*, 89 (4), 1302–10.

Johnson, L. M., Harrison, J. H., Davidson, D., Mahanna, W. C., & Shinnors, K. (2003). Corn silage management: effects of hybrid, chop length, and mechanical processing on digestion and energy content. *Journal of Dairy Science*, 86 (1), 208–231.

Johnson, R. G., & Young, a J. (2003). The association between milk urea nitrogen and DHI production variables in western commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 86 (9), 3008–15.

Jones, C., Heinrichs, A. J., Roth, G. W., & Ishler, V. A. (2004). From harvest to feed: Understanding silage management, 1–38. Disponível em: <http://extension.psu.edu/publications/ud016>.

Jones, G., & Stallings, C. (1999). Reducing Heat Stress for Dairy Cattle. Disponível em: http://www.hydrofun.net/pdf/dairy_misting.pdf

Jonh, M. (1989). Spoilage and heating of stored agricultural products. Disponível em <https://www.grainscanada.gc.ca/storage-entrepose/jmills/shsap-depae-eng.pdf>.

Jonker, J. S., Kohn, R. a, & Erdman, R. a. (1998). Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81 (10), 2681–92.

Kelton, D., Lissemore, K., & Martin, R. (1998). Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 81 (9), 2502–9.

Keown, J., & Grant, R. (2005). How to reduce heat stress in dairy cattle. Disponível em: <http://extension.unl.edu/publications>.

Keunen, J. E., Plaizier, J. C., Kyriazakis, L., Duffield, T. F., Widowski, T. M., Lindinger, M. I., & McBride, B. W. (2002). Effects of a subacute ruminal acidosis model on the diet selection of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85 (12), 3304–13.

Khafipour, E., Krause, D. O., & Plaizier, J. C. (2009). Alfalfa pellet-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows increases bacterial endotoxin in the rumen without causing inflammation. *Journal of Dairy Science*, 92 (4), 1712–24.

Kim, I.H., & Suh, G.H. (2003). Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum

- diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows. *Theriogenology*, 60 (8), 1445–1456.
- Kleen, J. L., Hooijer, G., Rehage, J., & Noordhuizen, J. P. T. M. (2003). Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *Journal of Veterinary Medicine*, 50 (8), 406–14.
- Kleen, J. L., Uppang, L., & Rehage, J. (2013). Prevalence and consequences of subacute ruminal acidosis in German dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55, 48.
- Koehler, B., Diepolder, M., & Ostertag, J. (2013). Dry matter losses of grass, lucerne and maize silages in bunker silos. *Agricultural and Food Science*, 145–150.
- Kononoff, P. J., Heinrichs, a J., & Buckmaster, D. R. (2003). Modification of the Penn State forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content on its measurements. *Journal of Dairy Science*, 86 (5), 1858–63.
- Kononoff, P. J., Heinrichs, J., & Lehman, H. (2003). The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86 (10), 3343–53.
- Krajcarski-Hunt, H., Plaizier, J. C., Walton, J. P., Spratt, R., & McBride, B. W. (2002). Short communication: Effect of subacute ruminal acidosis on in situ fiber digestion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85 (3), 570–3.
- Krause, K. M. (2009). To Buffer or Not ? Supplemental Bicarb and Subacute Ruminal Acidosis. Division of Animal and Nutritional Sciences West Virginia University.
- Krause, K. M., Combs, D. K., & Beauchemin, K. a. (2002). Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. II. Ruminal pH and chewing activity. *Journal of Dairy Science*, 85 (8), 1947–57.
- Krause, K. M., Dhuyvetter, D. V, & Oetzel, G. R. (2009). Effect of a low-moisture buffer block on ruminal pH in lactating dairy cattle induced with subacute ruminal acidosis. *Journal of Dairy Science*, 92 (1), 352–64.
- Krause, K. M., & Oetzel, G. R. (2005). Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88 (10), 3633–9.
- Krawczel, P., & Grant, R. (2009). Effects of cow comfort on milk quality, productivity and behavior. *NMC Annuals Meeting Proceedings*, 15–24.
- Kristensen, N. B., & Raun, B. M. L. (2007). Ruminal and intermediary metabolism of propylene glycol in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 90 (10), 4707–4717.
- Kung, L. (2011). Silage Temperatures : How Hot is Too Hot ? Disponível em: <http://d2vsp3qmody48p.cloudfront.net/wp-content/uploads/2014/02/HowHotisTooHot-2011.pdf>
- Lambertz, C., Sanker, C., & Gauly, M. (2014). Climatic effects on milk production traits and somatic cell score in lactating Holstein-Friesian cows in different housing systems. *Journal of Dairy Science*, 97 (1), 319–29.
- Lang, S. L. C., Iverson, S. J., & Bowen, W. D. (2012). Primiparous and multiparous females differ in mammary gland alveolar development: implications for milk production. *Journal of Experimental Biology*, 215 (16), 2904–2911.
- LeBlanc, S. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *The Journal of Reproduction and Development*, 56, 29–35.

- LeBlanc, S. J., Lissemore, K. D., Kelton, D. F., Duffield, T. F., & Leslie, K. E. (2006). Major advances in disease prevention in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89 (4), 1267–1279.
- Lechartier, C., & Peyraud, J. L. (2010). The effects of forage proportion and rapidly degradable dry matter from concentrate on ruminal digestion in dairy cows fed corn silage-based diets with fixed neutral detergent fiber and starch contents. *Journal of Dairy Science*, 93 (2), 666–81.
- Leslie, K., Duffield, T., & LeBlanc, S. (2003). Monitoring and Managing Energy Balance in the Transition Dairy Cow. Disponível em: http://www.cvm.umn.edu/dairy/prod/groups/cvm/@pub/@cvm/documents/asset/cvm_33570.pdf
- Looper, M. L., Waldner, D. N., Stokes, S. R., & Jordan, E. R. (2001). Managing Milk Composition: Evaluating Herd Potential. AgriLife Extension, 6–8. Disponível em: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Managing+Milk+Composition+:+Evaluating+Herd+Potential#0>
- Marden, J. P., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R., & Bayourthe, C. (2008). How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? *Journal of Dairy Science*, 91 (9), 3528–35.
- Martin, S., Sullivan, H. M., & Evans, J. D. (2000). Effect of sugars and malate on ruminal microorganisms. *Journal of Dairy Science*, 83 (11), 2574–9.
- Marutsova, V., Binev, R., & Marutsov, P. (2015). Comparative clinical and hematological investigations in lactating cows with subclinical and clinical ketosis. *Mac Vet Rev*, 38 (2).
- McArt, J., Nydam, D. V., & Oetzel, G. R. (2012). Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95 (9), 5056–66.
- McArt, J., Nydam, D. V., Ospina, P., & Oetzel, G. R. (2011). A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*, 94 (12), 6011–20.
- McArt, J., Nydam, D. V., & Overton, M. W. (2015). Hyperketonemia in early lactation dairy cattle: A deterministic estimate of component and total cost per case. *Journal of Dairy Science*, 98, 2043–2054.
- Melendez, P., & Risco, C. A. (2005). Management of transition cows to optimize reproductive efficiency in dairy herds. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*.
- Mertens, D. R. (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80 (7), 1463–81.
- Moran, J. (2002). The principles of digestion of feed in calves. *Calf rearing - A practical guide*. (2^o Ed.). (pp. 7-14). Victoria: Landlinks Press.
- Mulligan, F. J., & Doherty, M. L. (2008). Production diseases of the transition cow. *Veterinary Journal*, 176 (1), 3–9.
- Mulligan, F. J., O'Grady, L., Rice, D., & Doherty, M. L. (2006). A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal Reproduction Science*, 96 (3-4), 331–53.

- Nappert, G., & Naylor, J. (2001). A comparison of pH determination methods in food animal practice. *The Canadian Veterinary Journal*, 42, 1–4.
- National Research Council. (1971). A guide to environmental research on animals. National Academy of Science, Washington, DC
- National Research Council. (2001). Requirements of Dairy Cattle. (7th ed.). National Academy of Science, Washington, DC.
- Nocek, J. E. (1997). Bovine acidosis: implications on laminitis. *Journal of Dairy Science*, 80 (5), 1005–28.
- Nocek, J. E., & Tamminga, S. (1991). Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *Journal of Dairy Science*, 74 (10), 3598–3629.
- Nordlund, K. (1993). A Form to Develop Goals For Dairy Production Medicine Programs. In *Bovine Practitioner* (pp. 1–9). Disponível em: <http://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/1econ/goaltxt2.pdf>
- Nordlund, K. (2003a). Herd-based diagnosis of subacute ruminal acidosis. *American Association of Bovine Practitioners*.
- Nordlund, K. (2003b). Factors that contribute to subacute ruminal acidosis. *American Association of Bovine Practitioners*.
- Nordlund, K. V., Cook, N. B., & Oetzel, G. R. (2004). Investigation Strategies for Laminitis Problem Herds. *Journal of Dairy Science*, 87, 27–35.
- O’Grady, L., Doherty, M. L., & Mulligan, F. J. (2008). Subacute ruminal acidosis (SARA) in grazing Irish dairy cows. *Veterinary Journal*, 176(1), 44–9.
- Oetzel, G. R. (2003a). Subacute Ruminal Acidosis in Dairy Cattle Physiology of Ruminal pH. In *Advances in Dairy Technology* (Vol. 15, pp. 307–317).
- Oetzel, G. R. (2003b). Herd-Based Biological Testing For Metabolic Disorders. *Preconvention Seminar 7: Dairy Herd Problem Investigation Strategies American Association of Bovine Practitioners 36th Annual Conference*, September 15-17, 2003 - Columbus, OH.
- Oetzel, G. R. (2004). Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*.
- Oetzel, G. R. (2007). Herd-level ketosis—diagnosis and risk factors. In *Preconference Seminar 7C: Dairy Herd Problem Investigation Strategies: Transition Cow Troubleshooting American Association of Bovine Practitioners* (pp. 67–91).
- Oetzel, G. R. (2010). Prevention of Nutritional and Metabolic Diseases in Dairy Cattle. *Ohio Dairy Veterinarians Meeting*, 19–44.
- Oetzel, G. R. (2015). Understanding the Impact of Subclinical Ketosis. Disponível em: http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/2013/2_oetzel.pdf
- Olson, J. D. (1997). The Relationship between Nutrition and Management to Lameness in Dairy Cattle. In *The Bovine Practitioner* (pp. 119–125).
- Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J., & Gill, D. R. (1998). Acidosis in cattle : a review. *Journal of Animal Science*, 275–286.

- Palmquist, D. L. (2006). Milk Fat: Origin of Fatty Acids and Influence of Nutritional Factors Thereon. In P. F. Fox & P. L. H. McSweeney (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry* (3rd ed., Vol. 2, pp. 43–92). New York: Springer.
- Palmquist, D. L., Denise Beaulieu, & Barbano, D. M. (1993). Feed and Animal Factors Influencing Milk Fat Composition. *Journal of Dairy Science*, 76 (6), 1753–1771.
- Parish, J. (2011). Ruminant Digestive Anatomy and Function. *Cattle Business in Mississippi*. Disponível em: http://msucare.com/livestock/beef/mca_feb2011.pdf.
- Plaizier, J. C., Fairfield, M., Azevedo, P., Duffield, T. F., Crow, G. H., McBride, B. W. (2005). Effects of monensin and stage of lactation on variation of blood metabolites within twenty-four hours in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88 (10), 3595–3602.
- Plaizier, J. C., Garner, T., Droppo, T., & Whiting, T. (2004). Nutritional practices on Manitoba dairy farms. *Canadian Journal of Animal Science*.
- Plaizier, J. C., Keunen, J. E., Walton, J.P., Duffield, T. F., & McBride, B. W. (2001). Effect of subacute ruminal acidosis on in situ digestion of mixed hay in lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 81 (3), 421–423.
- Plaizier, J. C., Krause, D. O., Gozho, G. N., & McBride, B. W. (2008). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *Veterinary Journal*, 176 (1), 21–31.
- Radostits, M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., & Constable, P. D. (2007). *Veterinary medicine*. (10 th, pp. 1613–1688). Elsevier.
- Rego, O., Alves, S. P., Antunes, L. M. S., Rosa, H. J. D., Alfaia, C. F. M., Prates, J. M., Bessa, R. J. B. (2009). Rumen biohydrogenation-derived fatty acids in milk fat from grazing dairy cows supplemented with rapeseed, sunflower, or linseed oils. *Journal of Dairy Science*, 92 (9), 4530–4540.
- Reynolds, C. K., Dürst, B., Lupoli, B., Humphries, D. J., & Beever, D. E. (2004). Visceral tissue mass and rumen volume in dairy cows during the transition from late gestation to early lactation. *Journal of Dairy Science*, 87 (4), 961–71.
- Risco, C., & Retamal, P. (2011). *Dairy Production Medicine*. (1st ed.). Iowa. Wiley-Blackwell.
- Rustomo, B., Cant, J., & Fan, M. (2006). Acidogenic value of feeds I. The relationship between the acidogenic value of feeds and in vitro ruminal pH changes. *Canadian Journal of Animal Science*, 109–117.
- Schepers, J., & Meijer, R. G. (1998). Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentration in milk. *Journal of Dairy Science*, 81 (2), 579–84.
- Sejrsen, K., Hvelplund, T., & Nielsen, M. O. (2008). Ruminant physiology. *Wageningen Academic Publishers*.
- Shearer, J., Bray, D. R., & Bucklin, R. A. (1999). The management of heat stress in dairy cattle: What we have learned in Florida. Disponível em: <https://secure.hosting.vt.edu/www.dasc.vt.edu/extension/nutritioncc/shear99b.pdf>
- Shen, J. S., Chai, Z., Song, L. J., Liu, J. X., & Wu, Y. M. (2012). Insertion depth of oral stomach tubes may affect the fermentation parameters of ruminal fluid collected in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95 (10), 5978–84.

- Shi, Y., & Weimer, P. J. (1992). Response Surface Analysis of the Effects of pH and Dilution Rate on *Ruminococcus flavefaciens* FD-1 in Cellulose-Fed Continuous Culture, 58(8), 2583–2591.
- Shu, Q., Gill, H. S., Hennessy, D. W., Leng, R. A., Bird, S. H., & Rowe, J. B. (1999). Immunisation against lactic acidosis in cattle. *Research in Veterinary Science*, 67 (1), 65–71.
- Soriani, N., Panella, G., & Calamari, L. (2013). Rumination time during the summer season and its relationships with metabolic conditions and milk production. *Journal of Dairy Science*, 96 (8), 5082–94.
- Staples, C. (2007). Nutrient and feeding strategies to enable cows to cope with heat stress conditions. *Proceedings of the Southwest Nutrition and Management Conference*, 93–108.
- Steiner, S., Neidl, a, Linhart, N., Tichy, a, Gasteiner, J., Gallob, K., Wittek, T. (2014). Randomised prospective study compares efficacy of five different stomach tubes for rumen fluid sampling in dairy cows. *The Veterinary Record*, 1–8.
- Stengårde, L., Tråvén, M., Emanuelson, U., Holtenius, K., Hultgren, J., & Niskanen, R. (2008). Metabolic profiles in five high-producing Swedish dairy herds with a history of abomasal displacement and ketosis. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50, 31.
- Stone, W. C. (2004). Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 87, 13–26.
- Storm, C., & Kristensen, N. B. (2010). Effects of particle size and dry matter content of a total mixed ration on intraruminal equilibration and net portal flux of volatile fatty acids in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93 (9), 4223–38.
- Suthar, V. S., Canelas-Raposo, J., Deniz, a, & Heuwieser, W. (2013). Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96 (5), 2925–38.
- Tafaj, M., Junck, B., Maulbetsch, A., Steingass, H., Piepho, H. P., & Drochner, W. (2004). Digesta characteristics of dorsal, middle and ventral rumen of cows fed with different hay qualities and concentrate levels. *Archives of Animal Nutrition*, 58 (4), 325–42.
- Teimouri Yansari, Valizadeh, R., Naserian, a, Christensen, D., Yu, P., & Eftekhari Shahroodi, F. (2004). Effects of alfalfa particle size and specific gravity on chewing activity, digestibility, and performance of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87 (11), 3912–24.
- Thatcher, W. W., Flamenbaum, I., Block, J., & Bilby, T. R. (2010). Interrelationships of Heat Stress and Reproduction in Lactating Dairy Cows 1. *In High Plains Dairy Conference* (pp. 45–60).
- Thomas, H. (2009). Digestive problems. *The Cattle Health Handbook*. (1st ed.). (pp. 516–523). Storey Publishing.
- Tothova, C., Nagy, O., & Kovac, G. (2014). Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants : a review. *Veterinarni Medicina*, 163–180.
- VandeHaar, M. J., & St-Pierre, N. (2006). Major advances in nutrition: relevance to the sustainability of the dairy industry. *Journal of Dairy Science*, 89 (4), 1280–1291.

- Walsh, R. B., Walton, J. S., Kelton, D. F., LeBlanc, S. J., Leslie, K. E., & Duffield, T. F. (2007). The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90 (6), 2788–96.
- Wathes, D. C., Cheng, Z., Bourne, N., Taylor, V. J., Coffey, M. P., & Brotherstone, S. (2007). Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domestic Animal Endocrinology*, 33 (2), 203–225.
- Wells, J. E., & Russell, J. B. (1996). Why do many ruminal bacteria die and lyse so quickly? *Journal of Dairy Science*, 79 (8), 1487–95.
- West, J. W. (1999). Nutritional Strategies for Managing the Heat-Stressed Dairy Cow. *Journal of Dairy Science*, 21–35.
- West, J. W. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 86 (6), 2131–44.
- Wolf, C. A. (2003). The economics of dairy production. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*.
- Yang, W. Z., & Beauchemin, K. (2006). Effects of physically effective fiber on chewing activity and ruminal pH of dairy cows fed diets based on barley silage. *Journal of Dairy Science*, 89 (1), 217–28.
- Yang, W. Z., & Beauchemin, K. (2009). Increasing physically effective fiber content of dairy cow diets through forage proportion versus forage chop length: chewing and ruminal pH. *Journal of Dairy Science*, 92 (4), 1603–15.
- Yang, W. Z., Beauchemin, K., & Rode, L. M. (2001). Effects of grain processing, forage to concentrate ratio, and forage particle size on rumen pH and digestion by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84 (10), 2203–16.
- Zebeli, Q., Aschenbach, J. R., Tafaj, M., Boguhn, J., Ametaj, B. N., & Drochner, W. (2012). Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95 (3), 1041–56.
- Zebeli, Q., Dijkstra, J., Tafaj, M., Steingass, H., Ametaj, B. N., & Drochner, W. (2008). Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. *Journal of Dairy Science*, 91 (5), 2046–66.
- Zebeli, Q., Tafaj, M., Junck, B., Olschläger, V., Ametaj, B. N., & Drochner, W. (2008). Evaluation of the response of ruminal fermentation and activities of nonstarch polysaccharide-degrading enzymes to particle length of corn silage in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91 (6), 2388–98.
- Zebeli, Q., Tafaj, M., Steingass, H., Metzler, B., & Drochner, W. (2006). Effects of physically effective fiber on digestive processes and milk fat content in early lactating dairy cows fed total mixed rations. *Journal of Dairy Science*, 89 (2), 651–68.
- Zimbelman, R. (2009). A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. *Southwest Nutrition & Management Conference* (pp. 158–169). Disponível em: <http://www.researchgate.net/publication/251735409>

11. Anexo

Anexo A - Compilação dos dados do estudo

EXP	Vaca	DEL	NL	PL	BHEI	pH	Qt	ESR	TB	TP	TU	COS	Mon	PM	BHEI	CSCI	RGP	PSPS19	PSPS8	PSPS1,18	PSPS8	PSPS1
Exp1	1	22	1	26,2	50	6,4	12	0	0	1	1	0	.	10,3	35,3	10,8	45,6	56,4
Exp1	2	15	1	24,2	0	6,4	35	0	0	1	0	0	.	10,3	35,3	10,8	45,6	56,4
Exp1	3	42	2	34,2	0	6,1	40	0	0	2	0	0	.	10,3	35,3	10,8	45,6	56,4
Exp1	4	68	2	34,8	0	6,6	40	0	0	2	0	0	.	10,3	35,3	10,8	45,6	56,4
Exp1	5	51	4	28,2	0	6,6	35	0	0	2	0	0	.	10,3	35,3	10,8	45,6	56,4
Exp1	6	85	1	19,2	0	6,2	27	0	0	1	0	0	.	10,3	35,3	10,8	45,6	56,4
Exp1	7	52	2	35,2	0	5,9	34	0	0	2	0	0	.	10,3	35,3	10,8	45,6	56,4
Exp1	8	28	5	27,8	100	6,5	33	1	0	2	2	1	.	10,3	35,3	10,8	45,6	56,4
Exp1	9	41	2	29,4	500	6	20	1	0	2	4	1	.	10,3	35,3	10,8	45,6	56,4
Exp2	10	45	6	41,6	200	5,9	36	0	.	.	.	67	0	2	2	1	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	11	24	3	31	500	5,7	37	0	.	.	.	803	0	2	4	1	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	12	80	2	30,6	0	6,7	25	0	.	.	.	124	0	2	0	0	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	13	50	5	25,9	0	5,6	17	0	.	.	.	946	0	2	0	0	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	14	47	3	47,7	0	6,3	35	0	.	.	.	21	0	2	0	0	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	15	100	2	43,3	100	6,7	32	0	.	.	.	102	0	2	2	1	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	16	36	4	45,7	0	6,3	24	0	.	.	.	35	0	2	0	0	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	17	45	3	27,8	50	6,8	32	0	.	.	.	124	0	2	1	0	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	18	36	3	39,1	0	5,8	35	0	.	.	.	68	0	2	0	0	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	19	82	3	43,5	200	6,2	32	0	.	.	.	946	0	2	2	1	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	20	24	3	33,8	0	6,3	36	0	.	.	.	87	0	2	0	0	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	21	52	2	43,2	0	5,7	20	0	.	.	.	35	0	2	0	0	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	22	12	2	41,3	200	5,8	40	0	.	.	.	194	0	2	2	1	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp2	23	45	2	49,1	0	6,1	20	0	.	.	.	59	0	2	0	0	.	1,57	33,2	12,63	34,77	47,4
Exp3	24	93	1	34,2	100	6,1	25	1	2,38	3,2	285	50	0	1	2	1	0,744	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp3	25	93	1	29,4	100	6,3	30	0	3,22	3,21	295	17	0	1	2	1	1,003	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp3	26	72	1	30,8	100	6	25	0	2,7	3,3	259	230	0	1	2	1	0,818	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp3	27	29	1	29	50	6,4	25	0	3,34	2,91	315	106	0	1	1	0	1,148	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp3	28	92	1	37,3	50	6,2	30	0	2,87	3,18	278	89	0	1	1	0	0,903	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp3	29	61	1	38,5	100	6,3	25	1	2,34	3,13	333	116	0	1	2	1	0,748	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp3	30	34	1	38,6	200	6	25	0	3,06	2,78	294	35	0	1	3	1	1,101	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp3	31	66	2	28,4	200	5,8	25	0	2,45	3,15	328	46	0	2	3	1	0,778	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp3	32	89	3	48,8	100	6,2	35	0	5,51	3,18	285	29	0	2	2	1	1,733	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp3	33	92	3	68	100	6,3	23	0	5,38	2,74	286	143	0	2	2	1	1,964	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp3	34	28	2	39,4	200	6,2	20	0	3,37	3	236	17	0	2	3	1	1,123	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp3	35	92	2	38,2	100	6,3	18	0	2,45	3,66	250	133	0	2	2	1	0,669	10,75	29,65	13,98	40,4	54,38
Exp4	36	43	2	44,4	100	6,3	40	0	2,9	3,15	241	25	0	2	2	1	0,921	3,87	39,8	12,39	43,67	56,06
Exp4	37	27	2	37,4	0	6,1	37	0	2,86	2,82	194	53	0	2	0	0	1,014	3,87	39,8	12,39	43,67	56,06
Exp4	38	43	1	34,6	0	6,2	40	0	4,15	3,37	229	43	0	1	0	0	1,231	3,87	39,8	12,39	43,67	56,06
Exp4	39	93	1	30,4	0	6,5	35	0	3,5	3,12	220	26	0	1	0	0	1,122	3,87	39,8	12,39	43,67	56,06
Exp4	40	35	1	41,6	0	6	40	0	3,87	3,21	230	27	0	1	0	0	1,206	3,87	39,8	12,39	43,67	56,06
Exp4	41	31	1	30,6	50	6,6	22	0	4	3,49	262	24	0	1	1	0	1,146	3,87	39,8	12,39	43,67	56,06

EXP	Vaca	DEL	NL	PL	βHBI	pH	Qf	ESR	TB	TP	TU	CCS	Mon	PM	BHBI	CSCI	RGP	PSPS19	PSPS8	PSPS1,18	PSPS18	PSPSt
Exp4	42	65	1	34.4	0	6.6	25	0	3.51	2.81	262	97	0	1	0	0	1,249	3,87	39.8	12.39	43.67	56.06
Exp4	43	99	1	32.4	0	6.7	33	0	3.91	3.22	238	81	0	1	0	0	1,214	3,87	39.8	12.39	43.67	56.06
Exp4	44	16	6	41.6	50	6.4	25	0	4.64	2.63	217	16	0	2	1	0	1,764	3,87	39.8	12.39	43.67	56.06
Exp4	45	35	3	40.6	100	6.5	35	0	3.84	3.38	285	31	0	2	2	1	1,136	3,87	39.8	12.39	43.67	56.06
Exp4	46	27	3	34.6	50	6.3	35	0	2.94	2.92	202	121	0	2	1	0	1,007	3,87	39.8	12.39	43.67	56.06
Exp5	47	25	3	38.3	0	6.4	40	0	4.07	2.99	253	32	0	2	0	0	1,361	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp5	48	82	3	34.9	50	6.5	40	0	6.84	3.53	175	79	0	2	1	0	1,938	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp5	49	12	3	40.4	100	6.6	38	0	5	3.07	261	32	0	2	2	1	1,629	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp5	50	24	6	33.2	0	6.8	26	0	4.6	3.31	154	31	0	2	0	0	1,39	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp5	51	13	5	34.6	500	6.6	38	0	5.1	3.81	179	81	0	2	4	1	1,339	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp5	52	24	4	46.6	50	6.7	28	0	3.89	2.96	237	39	0	2	1	0	1,314	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp5	53	69	3	37.7	50	6.8	18	0	3.48	2.83	245	27	0	2	1	0	1,23	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp5	54	67	5	37.8	100	6.1	27	0	5.55	2.57	258	1652	0	2	2	1	2,16	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp5	55	59	3	40.8	50	6.3	4	0	5.71	3.3	172	26	0	2	1	0	1,73	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp5	56	65	4	40.6	0	6.6	33	1	6.59	3.01	186	1336	0	2	0	0	2,189	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp5	57	62	2	34.5	100	6.5	30	1	5.67	2.97	212	94	0	2	2	1	1,909	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp5	58	90	8	44.8	0	6.5	27	1	4.48	2.86	221	919	0	2	0	0	1,566	36.79	22.58	8.94	59.37	68.31
Exp6	59	78	1	22.3	0	6.2	30	1	4.22	3.7	179	8	1	1	0	0	1,141	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	60	24	1	25.4	0	5.6	35	0	2.9	2.86	242	75	1	1	0	0	1,014	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	61	19	1	23	0	6.4	22	0	3.1	2.75	230	14	1	1	0	0	1,127	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	62	34	2	30	50	6	35	1	3.18	2.85	240	29	1	2	1	0	1,116	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	63	18	1	30.2	0	6.4	35	0	3.15	2.79	235	16	1	1	0	0	1,129	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	64	36	1	37.3	100	5.7	30	1	3.53	2.46	209	39	1	1	2	1	1,435	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	65	48	1	36.1	50	6	35	1	3.61	3.2	202	12	1	1	1	0	1,128	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	66	74	1	32	100	5.9	35	1	2.89	2.84	226	16	1	1	2	1	1,018	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	67	73	4	39.7	50	5.6	35	1	3.16	3.24	172	267	1	2	1	0	0.975	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	68	44	2	37.2	50	6.1	30	1	3.23	2.66	194	23	1	2	1	0	1,214	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	69	45	2	44.1	100	6.1	35	1	2.27	2.93	180	24	1	2	2	1	0.775	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	70	45	3	44	500	5.9	40	0	2.36	3.07	166	1659	1	2	4	1	0.769	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	71	73	2	36.6	100	5.5	35	0	3.05	2.62	152	78	1	2	2	1	1,164	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	72	46	2	40	100	5.9	35	0	2.56	2.61	264	1542	1	2	2	1	0.981	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp6	73	70	3	39.1	100	5.9	35	1	3.76	3.04	166	799	1	2	2	1	1,237	12.85	37.01	12.35	49.86	62.21
Exp7	74	33	1	42.2	50	5.9	10	1	3.97	3.1	297	317	1	1	1	0	1,281	3.57	39.83	14.65	43.4	58.05
Exp7	75	83	1	30.4	0	6.1	32	0	4.11	3.18	325	14	1	1	0	0	1,292	3.57	39.83	14.65	43.4	58.05
Exp7	76	67	1	40.4	100	6.1	35	1	4.47	2.92	204	97	1	1	2	1	1,531	3.57	39.83	14.65	43.4	58.05
Exp7	77	28	1	32.8	0	5.9	10	0	4.78	2.71	275	633	1	1	0	0	1,764	3.57	39.83	14.65	43.4	58.05
Exp7	78	60	1	23.4	500	5.9	25	1	3.46	3.28	207	224	1	1	4	1	1,055	3.57	39.83	14.65	43.4	58.05
Exp7	79	77	1	31.9	0	5.5	40	0	3.81	3.18	302	23	1	1	0	0	1,198	3.57	39.83	14.65	43.4	58.05
Exp7	80	49	2	49.7	100	6.7	22	0	4.69	2.66	259	13	1	2	2	1	1,763	3.57	39.83	14.65	43.4	58.05
Exp7	81	66	2	49.2	100	6.4	10	1	4.02	2.92	292	15	1	2	2	1	1,377	3.57	39.83	14.65	43.4	58.05
Exp7	82	35	2	55.4	200	6.1	25	0	7.4	2.54	300	1033	1	2	2	1	2,913	3.57	39.83	14.65	43.4	58.05

EXP	Vaca	DEL	NL	PL	βHBI	pH	Cl ⁻	ESR	TB	TP	TU	CCS	Mon	PM	BHBI	CSCI	RGP	PSPS19	PSPS8	PSPS1,18	PSPS18	PSPS1
Exp13	165	10	3	36,7	100	6,4	30	0	3,81	3,17	277	281	0	2	2	1	1,202	3,63	50,97	9,59	54,6	64,19
Exp13	166	52	3	28	100	6,4	15	0	3,64	3,01	280	267	0	2	2	1	1,209	3,63	50,97	9,59	54,6	64,19
Exp13	167	24	1	36,8	0	5,9	32	0	3,72	2,84	252	84	0	1	0	0	1,31	3,63	50,97	9,59	54,6	64,19
Exp13	168	78	3	31,4	500	6,2	34	0	2,6	3,04	281	48	0	2	4	1	0,855	3,63	50,97	9,59	54,6	64,19
Exp13	169	64	3	39,3	100	6,1	33	1	3,67	3,05	233	30	0	2	2	1	1,203	3,63	50,97	9,59	54,6	64,19
Exp13	170	34	1	22,5	0	6,3	35	0	3,66	3,22	256	839	0	1	0	0	1,137	3,63	50,97	9,59	54,6	64,19
Exp13	171	89	2	33,6	100	6,2	27	0	3,86	3,42	256	43	0	2	2	1	1,129	3,63	50,97	9,59	54,6	64,19
Exp14	172	99	2	40	50	6,1	34	0	3,07	2,5	.	50	1	2	1	0	1,228	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	173	43	4	42	50	6,3	35	0	3,79	2,67	.	785	1	2	1	0	1,419	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	174	33	2	51	100	6,6	35	1	4,91	2,75	.	29	1	2	2	1	1,785	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	175	56	2	45	100	6,5	37	0	2,31	2,74	.	25	1	2	2	1	0,843	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	176	47	3	53	100	6,2	37	1	5,18	2,64	.	210	1	2	2	1	1,962	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	177	97	2	38	0	6,2	37	0	3,93	2,98	.	84	1	2	0	0	1,319	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	178	59	3	44	100	6,2	33	0	2,86	2,35	.	69	1	2	2	1	1,217	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	179	21	3	39	0	6,4	35	1	4,77	2,86	.	24	1	2	0	0	1,668	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	180	23	2	39	0	6,4	36	0	4,25	2,72	.	42	1	2	0	0	1,563	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	181	54	1	34	0	6,3	30	0	3,03	2,75	.	65	1	1	0	0	1,102	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	182	50	1	30	0	6,2	25	0	3,68	2,95	.	41	1	1	0	0	1,247	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	183	91	1	38	100	5,9	40	0	1,93	2,79	.	47	1	1	2	1	0,692	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	184	47	1	33	0	6,5	30	1	3,35	2,82	.	165	1	1	0	0	1,188	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86
Exp14	185	83	1	35	100	6,6	12	0	1,93	2,89	.	193	1	1	2	1	0,668	11,98	28,74	18,14	40,72	58,86

Tabela com os valores de THI para vacas leiteiras e para seres humanos

Índice de temperatura e humidade em vacas leiteiras																			Índice de temperatura e humidade para seres humanos												
Humidade %																			Humidade %												
T °C	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	T °C	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90
22,2	64	65	65	65	66	66	67	67	67	68	68	69	69	69	70	70	70	71	71	22,2											
23,3	65	66	66	67	67	67	68	68	69	69	70	70	70	71	71	72	72	73	73	23,3											
24,4	66	67	67	68	68	69	69	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75	24,4											
25,5	67	68	68	69	69	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75	76	76	25,5											
26,6	68	69	69	70	70	71	72	72	73	74	75	75	76	76	77	78	78	79	79	26,6	80	80	81	81	82	82	83	84	84	85	86
27,7	69	69	70	70	71	72	73	73	74	75	75	76	77	77	78	79	79	80	80	27,7	81	82	83	84	84	85	86	88	89	90	91
28,8	70	70	71	72	73	73	74	75	75	76	77	78	78	79	80	80	81	82	83	28,8	83	84	85	86	88	89	90	92	94	96	98
30,0	71	71	72	73	74	74	75	76	77	78	78	79	80	81	81	82	83	84	84	30,0	85	87	88	89	91	93	95	97	100	102	105
31,1	72	72	73	74	75	76	76	77	78	79	80	81	81	82	83	84	85	86	86	31,1	88	89	91	93	95	98	100	103	106	110	113
32,2	72	73	74	75	76	77	78	79	79	80	81	82	83	84	85	86	86	87	88	32,2	91	93	95	97	100	103	105	109	113	117	122
33,3	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	85	86	87	88	89	90	33,3	94	96	99	101	105	108	112	116	121	126	131
34,4	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	86	86	87	88	89	90	91	92	34,4	97	100	103	106	110	114	119	124	129	135	
35,5	75	76	77	78	79	80	81	82	83	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	35,5	101	104	108	112	116	121	126	132			
36,6	76	77	78	80	80	82	83	83	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	36,6	105	109	113	117	123	128	134				
37,7	77	78	79	81	82	83	84	85	86	87	88	90	91	92	93	94	95	96	98	37,7	109	114	118	124	129	136					
38,8	78	79	80	82	83	84	85	86	87	89	90	91	92	94	95	96	97	98	100	38,8	114	119	124	130	137						
40,0	79	80	81	83	84	85	86	88	89	90	91	93	94	95	96	98	99	100	101	40,0	119	124	131	137							
41,1	80	81	82	84	85	87	88	89	90	91	93	94	95	97	98	99	101	102	103	41,1	124	130	137								
42,2	81	82	83	85	86	88	89	90	92	93	94	96	97	98	100	101	103	104	105	42,2	130	137									
43,3	81	83	84	86	87	89	90	91	93	95	96	97	99	100	101	103	104	106	107	43,3	136										

- Limiar de stress para as vacas em lactação. A taxa de respiração excede os 60 batimentos/minuto. Há perdas de aproximadamente 1,13 kg de leite vaca/dia. Perdas reprodutivas são detectáveis e a temperatura rectal excede os 38,5 °C.
- Stress térmico leve ou moderado para as vacas em lactação. A taxa de respiração excede os 75 batimentos/minuto. Há perdas de aproximadamente 2,7 kg de leite.vaca/dia. A temperatura rectal excede os 39 °C.
- Stress térmico moderado a grave para as vacas em lactação. A taxa de respiração excede os 85 batimentos/minuto. Há perdas de aproximadamente 3,9 kg de leite vaca/dia. A temperatura rectal excede os 40 °C.
- Stress térmico grave para as vacas em lactação. A taxa de respiração excede os 120 a 140 batimentos/minuto. A temperatura rectal excede os 41,1 °C.

Fonte: <http://www.extension.umn.edu/agriculture/dairy/health-and-comfort/easing-milking-time-heat-stress/>.